

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

MÉMOIRE PRÉSENTÉ À
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À TROIS-RIVIÈRES

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE

PAR
JOSHUA CLOUTIER-BEAUPRÉ

EFFET DE LA CÉCITÉ PRÉCOCE SUR L'EXPRESSION DE PROTÉINES
SYNAPTiques DANS LES CORTEX SENSORIELS PRIMAIRES DE LA SOURIS

MAI 2014

Université du Québec à Trois-Rivières

Service de la bibliothèque

Avertissement

L'auteur de ce mémoire ou de cette thèse a autorisé l'Université du Québec à Trois-Rivières à diffuser, à des fins non lucratives, une copie de son mémoire ou de sa thèse.

Cette diffusion n'entraîne pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits de propriété intellectuelle, incluant le droit d'auteur, sur ce mémoire ou cette thèse. Notamment, la reproduction ou la publication de la totalité ou d'une partie importante de ce mémoire ou de cette thèse requiert son autorisation.

*If knowledge can create problems, it's not
through ignorance that we can solve them.*

Isaac Asimov

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je souhaite remercier le Dr Gilles Bronchti puisque c'est lui qui, en premier lieu, m'a permis d'entreprendre ma maîtrise dans le laboratoire d'anatomie fonctionnelle qu'il partage avec le Dr Denis Boire. Il a su éveiller mon intérêt en me présentant les travaux effectués dans son laboratoire. Je lui suis très reconnaissant de la chance qu'il m'a donnée de faire partie de l'équipe de recherche du laboratoire d'anatomie fonctionnelle et de la confiance qu'il m'a accordée tout au long de mes recherches.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mon directeur de recherche, le Dr Denis Boire pour tout le temps et l'énergie qu'il m'a accordés afin de mener à terme ce projet. Il a su reconnaître mes compétences ainsi que mes champs d'intérêt et m'a permis de les utiliser dans le cadre d'un projet de recherche stimulant, novateur et surtout d'un grand intérêt scientifique. Il m'a fourni tous les outils pour faire de moi un bon chercheur et m'a montré le chemin à suivre lorsque je croyais être dans une impasse.

Au cours de la réalisation de ce projet, j'ai eu la chance de travailler avec une équipe extraordinaire au laboratoire, et je tiens à les remercier. Merci à Marie-Eve Laramée pour tout le savoir qu'elle m'a transmis, à Ian Massé pour sa serviabilité et son support psychologique ainsi que Jonathan Pommainville avec qui j'ai collaboré au début de mon projet. Merci aussi aux nombreux stagiaires que j'ai côtoyés tout au long de ma maîtrise et qui ont contribué à rendre l'atmosphère du laboratoire aussi plaisante. Merci aussi à Mme Catarina Leote Franco Pio pour tout le temps et l'énergie qu'elle m'a consacré afin de m'aider à mettre en forme ce mémoire.

J'aimerais aussi remercier le Dr Jean-François Bouchard et son équipe de recherche qui m'ont accueilli dans leur laboratoire et m'ont permis de valider notre

méthode de travail, en plus de me donner plusieurs trucs et conseils qui m'ont été très utiles pour la réalisation de ce projet.

Merci aux nombreux organismes subventionnaires qui ont crû en mon potentiel et en mes aptitudes à contribuer, par ces recherches, à l'avancement des connaissances en neurosciences. Merci au Réseau de Recherche en Science de la Vision pour la bourse de recrutement que j'ai reçue à mon arrivée au laboratoire, au Conseil de Recherches en Sciences Naturelles et Génie pour la bourse de maîtrise Alexander Graham Bell, au Fonds de Recherche en Santé du Québec pour la bourse de formation à la maîtrise et à la fondation de l'Université du Québec à Trois-Rivières pour la bourse d'excellence au 2^e cycle.

Finalement, un grand merci à toute ma famille, qui a été présente depuis le début et jusqu'à la fin. Merci Papa, tu m'as toujours donné tous les moyens et l'envie d'aller au bout de mes ambitions. Chacune de mes réussites a été récompensée par la fierté évidente que j'ai pu lire dans tes yeux. Merci Maman, tu m'as appris à faire preuve de discernement, à relativiser et à réfléchir rationnellement; des qualités essentielles pour un bon scientifique. Merci surtout pour ton soutien moral et psychologique dans les moments où j'en avais le plus besoin. Merci Jordan, tu m'as habitué au choc des idées. Tu m'as permis de constater qu'il existe toujours deux points de vue diamétralement opposés sur un sujet, et que la vérité se retrouve souvent quelque part entre les deux. Une pensée toute spéciale pour Tamara, ma sœur, ma première institutrice et ma première idole, qui est certainement responsable du plaisir que j'éprouve toujours aujourd'hui à apprendre. Malgré ton absence physique, j'ai toujours senti ta présence lorsque j'en ai eu besoin et tous les moments de bonheur que nous avons partagés resteront à jamais gravés dans ma tête et dans mon cœur. Mes derniers mots vont à mon fils Derek et à sa mère : Mon bonhomme, tu es ma fierté et mon plus grand trésor. Merci à toi et ta mère de m'avoir aidé à garder les pieds sur terre. J'espère que je saurai avoir un impact aussi positif sur votre vie que celui que vous avez eu sur la mienne. Je me considère très choyé de pouvoir profiter de tous ces moments de bonheur que vous m'apportez.

RÉSUMÉ

L'activité visuelle afférente est importante pour le développement normal des aires corticales sensorielles. Chez les aveugles, l'absence d'activité visuelle entraîne d'importantes modifications fonctionnelles et structurelles dans les différents cortex sensoriels. Par exemple, le cortex visuel d'individus aveugles depuis la naissance peut être directement activé lors de tâches de discrimination tactiles et auditives, ce qui pourrait expliquer pourquoi ils sont généralement meilleurs que les voyants lors de l'exécution de ces tâches. Des études chez les animaux ont aussi démontré que l'absence d'activité visuelle pouvait modifier la composition biochimique des synapses dans le cortex visuel primaire, mais aussi dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires. Dans le cadre de ce projet de maîtrise, la modulation de l'expression des sous-unités des récepteurs du glutamate AMPA, GluR1 et GluR2 et des récepteurs NMDA, NR2A et NR2B, ainsi que deux protéines pré et postsynaptiques, la synaptophysine et PSD95, a été étudiée par immunobuvardage de type Western dans les cortex visuel, auditif et somatosensoriel primaires de souris C57bl/6J intactes, énucléées à la naissance et chez des souris anophtalmes congénitales ZRDCT/An. La comparaison des souris anophtalmes et énucléées permet d'évaluer l'effet de la plasticité intermodale sur l'expression de ces protéines puisque le cortex visuel primaire des souris ZRDCT/An est activé lors de stimulations auditives alors que celui des souris énucléées ne l'est pas. Les résultats obtenus ne montrent pas de modulation significative de l'expression de ces protéines chez les souris aveugles énucléées dès la naissance ou anophtalmes. L'absence d'activité rétinienne depuis un stade précoce du développement n'aurait donc pas d'effet sur l'expression des sous-unités composant les principaux récepteurs au glutamate dans les différents cortex sensoriels primaires de ces souris devenues adultes. Ces résultats sont différents de toutes les observations faites jusqu'à maintenant chez les animaux privés d'activité visuelle. Cette différence pourrait être attribuable au type de privation visuelle que nous avons utilisé, à la fraction biochimique étudiée, au milieu d'élevage des animaux ou à la durée de la privation visuelle.

Mots-clés : Neuroplasticité, Neurobiochimie, Privation visuelle, Immunobuvardage Western, Plasticité intermodale, Récepteurs AMPA, Récepteur NMDA, Néocortex, Souris, Développement cortical.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	iii
RÉSUMÉ.....	vi
LISTE DES FIGURES ET TABLEAU.....	x
LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES	xii
CHAPITRE I	
INTRODUCTION.....	1
1.1 La perte de vision.....	1
1.2 Objectif général	3
1.3 Les systèmes sensoriels	4
1.3.1 Le système visuel.....	5
1.3.2 Le système auditif.....	8
1.3.3 Le système somatosensoriel.....	9
1.4 La neuroplasticité.....	10
1.4.1 Les mécanismes de plasticité	11
1.4.2 Période critique	18
1.4.3 Plasticité intermodale.....	21
1.5 Récepteurs du glutamate.....	25
1.5.1 Récepteurs AMPA	26
1.5.2 Récepteurs NMDA	30
1.6 Autres protéines synaptiques	34
1.6.1 Synaptophysine.....	34
1.6.2 PSD95	36
1.7 Objectifs spécifiques et hypothèses	39
CHAPITRE II	
MATÉRIEL ET MÉTHODES	44
2.1 Modèles animaux.....	44
2.1.1 Souris C57BL/6J.....	47
2.1.2 Souris C57BL/6J énucléées à la naissance	47

2.1.3	Souris ZRDCT/An	48
2.1.4	Conditions d'élevage	49
2.2	Extraction des cortex	50
2.3	Extraction des protéines.....	51
2.4	Immunobuvardage de type Western	52
2.5	Analyse	55
CHAPITRE III		
RÉSULTATS.....		56
3.1	Expression des sous-unités GluR1 et GluR2 des récepteurs AMPA.....	57
3.2	Expression des sous-unités NR2A et NR2B des récepteurs NMDA.....	61
3.3	Expression des protéines Synaptophysine et PSD95	63
CHAPITRE IV		
DISCUSSION ET CONCLUSION.....		65
4.1	Modulation du protéome synaptique dans le cortex visuel des souris aveugles	65
4.2	Modulation du protéome synaptique dans les cortex auditif et somatosensoriel de souris aveugles	67
4.3	Effet de la plasticité intermodale sur le protéome synaptique	68
4.4	Interprétation des résultats en fonction de différents paramètres expérimentaux.....	72
4.4.1	Type de privation visuelle.....	72
4.4.2	Durée de la privation visuelle	75
4.4.3	Effet du milieu d'élevage.....	80
4.4.4	Effet du contrôle utilisé.....	82
4.4.5	Effet de la fraction biochimique étudiée.....	84
CHAPITRE V		
CONCLUSION.....		89
5.1	Contribution à l'avancement des connaissances et perspectives	89
5.2	Contribution au laboratoire.....	92
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		95
ANNEXE A		
MODULATION DE L'EXPRESSION DES PROTÉINES ÉTUDIÉES EN UTILISANT LES SOURIS ÉNUCLÉÉES COMME CONTRÔLE.....		120

ANNEXE B	
MODULATION DE L'EXPRESSION DES PROTÉINES ÉTUDIÉES EN	
UTILISANT LES SOURIS ANOPHTALMES COMME CONTRÔLE.....	121

LISTE DES FIGURES ET TABLEAU

Figure		Page
1.1	Relation phylogénétique entre les principaux représentants des différents groupes de mammifères	4
1.2	Trajet des projections rétino-fuges	6
1.3	Principales voies visuelles ascendantes	7
1.4	Trajet de l'information auditive	8
1.5	Exemple de mécanismes Hebbiens de plasticité.....	14
1.6	Exemple de mécanisme de plasticité homéostatique	17
1.7	Activation intermodale du cortex visuel primaire chez les aveugles précoces.....	23
1.8	Impact de la composition des récepteurs AMPA.....	27
1.9	Modification développementale du rapport NR2A/NR2B	32
2.1	Modèles de souris utilisées	47
2.2	Matrice d'acrylique	51
3.1	Détermination de la zone de détection linéaire dynamique	57
3.2	Expression des sous-unités GluR1 et GluR2 des récepteurs AMPA.....	59
3.3	Rapport GluR1/GluR2	60
3.4	Expression des sous-unités NR2A et NR2B des récepteurs NMDA	62
3.5	Rapport NR2A/NR2B.....	63
3.6	Expression des protéines synaptiques Synaptophysine et PSD95	64
4.2	Modulation développementale de l'expression des sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA chez le chat après une privation monoculaire.	78
4.1	Résultats du fractionnement subcellulaire	94

A.1	Expression des protéines GluR1, GluR2, NR2A, NR2B, Synaptophysine et PSD95 chez les souris voyantes et anophtalme par rapport aux souris énucléées	120
B.1	Expression des protéines GluR1, GluR2, NR2A, NR2B, Synaptophysine et PSD95 chez les souris voyantes et énucléées par rapport aux souris anophtalmes	121

Tableau

1.1	Résumé des hypothèses	43
2.1	Caractéristiques des anticorps utilisés	51

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

AMPA	α -amino-3-hydroxy-5-méthylisoazol-4-propionate
A1	Cortex auditif primaire
BDNF	Facteur neurotrophique dérivé du cerveau
BSA	Albumine sérique bovine
DLT	Dépression à long terme
GABA	Acide- γ -aminobutyrique
HRP	Peroxydase de Raifort
NDS	Sérum d'âne
NMDA	N-méthyl-D-aspartate
PLT	Potentiation à long terme
PNS	Surnageant post-nucléaire
PVDF	Polyfluorure de vinylidène
S1	Cortex somatosensoriel primaire
TARPs	Protéines régulatrices des récepteurs AMPA transmembranaires
V1	Cortex visuel primaire

CHAPITRE I

INTRODUCTION

L'interaction avec notre environnement dépend de notre perception de celui-ci, laquelle est tributaire de l'intégrité de nos cinq sens. Parmi ceux-ci, la vision est celle qui nous procure le plus de renseignements sur le monde qui nous entoure. (Blake et Sekuler, 2006). Chez l'humain, la proportion du cerveau utilisée à des fins visuelles est plus importante que celle utilisée par n'importe quelle autre modalité sensorielle, ce qui illustre bien l'importance de cette modalité (Kolb et Wishaw, 2002). La vision possède aussi plusieurs avantages sur les autres sens. Chaque objet présent dans notre environnement possède plusieurs caractéristiques visuelles comme la forme, la grosseur, et la couleur, mais n'a pas forcément de son ou d'odeur décelables particuliers. La vision fournit aussi des informations beaucoup plus précises sur la forme et la localisation des objets, bien que l'audition puisse, dans une certaine mesure, permettre l'identification de formes simples (Hausfeld *et al.*, 1982) et leur localisation (Middlebrooks et Green, 1991). De plus, contrairement aux autres sens qui ne permettent d'appréhender qu'un espace restreint, la vision nous procure des informations sur l'espace lointain.

1.1 La perte de vision

Chez les individus aveugles, l'activité neuronale dans le cortex visuel est modifiée puisqu'il ne reçoit plus d'afférences visuelles. Par ailleurs, les effets de l'absence d'afférences visuelles ne se limitent pas au cortex visuel, mais affectent aussi les cortex sensoriels impliqués dans le traitement des informations provenant des autres modalités sensorielles comme l'audition et le toucher puisque les individus aveugles doivent utiliser davantage les sens subsistants pour évoluer dans leur environnement.

Or, l'activité neuronale est importante pour la formation et la maturation des circuits neuronaux dans les cortex sensoriels des mammifères (Katz et Shatz, 1996). Le développement cortical dépend des changements locaux de l'activité électrique et métabolique dans ces cortex (Riddle *et al.*, 1993; Zheng et Purves, 1995). En effet, bien que l'établissement initial des circuits neuronaux soit déterminé génétiquement et dirigé par l'expression d'une variété de molécules de guidage (Goodman et Shatz, 1993; Tessier-Lavigne et Goodman, 1996), le raffinement des connexions neuronales est fortement influencé par l'activité neuronale (Goodman et Shatz, 1993; Cramer et Sur, 1995; Katz et Shatz, 1996; Zhang et Poo, 2001; Uesaka *et al.*, 2006).

Plusieurs études ont déjà démontré l'importance de l'activité visuelle afférente pour le développement normal des différentes aires corticales sensorielles, tant chez l'humain (Elbert *et al.*, 2002; Sur et Rubenstein, 2005) que chez différents modèles animaux (Stryker et Harris, 1986; Bronchti *et al.*, 1992; Rauschecker *et al.*, 1992; Rauschecker et Korte, 1993; Rauschecker et Kniepert, 1994; Katz et Shatz, 1996; Crair *et al.*, 1998; Katz et Crowley, 2002; Roder *et al.*, 2004; Cang *et al.*, 2005; Espinosa et Stryker, 2012). Par exemple, la sélectivité à l'orientation, au mouvement et à la direction des neurones du cortex visuel sont immatures chez les rongeurs adultes privés visuellement depuis la naissance (Fagiolini *et al.*, 1994).

La perte de vision affecte aussi le développement des cortex primaires des autres modalités sensorielles. Par exemple, on constate une hypertrophie du cortex auditif (Gyllenstein *et al.*, 1966) et du champs de tonneau dans le cortex somatosensoriel (Bronchti *et al.*, 1992; Fetter-Pruneda *et al.*, 2013) ainsi qu'une modification de la composition des récepteurs AMPA dans ces cortex (Goel *et al.*, 2006). Ces études ont mis en évidence d'importantes modifications anatomiques et biochimiques dans les cortex sensoriels lorsque l'expérience visuelle est altérée par l'absence ou la perte de la vision. Ces modifications du cerveau en réponse à une perte d'activité visuelle impliquent plusieurs mécanismes neuroplastiques et dépendent de plusieurs facteurs comme le type de lésion, le moment où elle survient, sa durée ainsi que le cortex sensoriel. La manière dont ces facteurs affectent le néocortex ainsi que les mécanismes

associés à ces modifications sont abordés plus en détail dans les prochaines sections de ce mémoire.

1.2 Objectif général

Bien que le rôle de l'activité sensorielle dans le développement des différentes aires corticales ait été abondamment étudié, les effets de l'absence de vision sur le développement cerveau sont encore loin d'être complètement élucidés. Notre équipe de recherche utilise des souris aveugles depuis la naissance afin de mieux comprendre les effets de la cécité prolongée et permanente sur les différents cortex sensoriels. Jusqu'à présent, les études menées à notre laboratoire se sont intéressées principalement aux conséquences neuroanatomiques de la perte de la vision et n'ont révélé que peu de différences dans la connectivité (Chabot *et al.*, 2008; Charbonneau *et al.*, 2012) dans le cortex visuel ou de la morphologie des neurones projetant dans le cortex visuel primaire (Laramée *et al.*, 2011; Laramée *et al.*, 2012) entre les souris aveugles et voyantes.

Dans le cadre de ce projet de maîtrise, nous avons analysé les modifications biochimiques des cortex sensoriels qui surviennent suite à la perte de la vision. Nous avons évalué l'expression de différentes protéines synaptiques dans les cortex visuel, auditif et somatosensoriel primaires de deux modèles de souris adultes aveugles depuis la naissance. Nous nous sommes intéressés plus particulièrement aux sous-unités prédominantes des principaux récepteurs responsables de la transmission synaptique excitatrice dans le néocortex, soit les sous-unités GluR1 et GluR2 des récepteurs AMPA ainsi que les sous-unités NR2A et NR2B des récepteurs NMDA. De plus, nous avons aussi étudié la modulation de l'expression de deux protéines présentes au niveau pré- et postsynaptique et couramment utilisées comme marqueur pour la quantification de synapses, soit la synaptophysine et PSD-95. Les sections suivantes présentent plus en détail quelques mécanismes de plasticité qui peuvent influencer le protéome en fonction des modifications de l'activité corticale ainsi que les différentes protéines étudiées, mais d'abord voyons quelques généralités sur les différents cortex sensoriels primaires dont la biochimie synaptique est susceptible d'être bouleversée par la perte de vision.

1.3 Les systèmes sensoriels

Cette section présente brièvement les différents systèmes sensoriels étudiés ici, avec une emphase particulière sur le système visuel. À moins d'indication contraire, les informations contenues dans cette section proviennent d'ouvrages de référence en neuroanatomie (Bear *et al.*, 2000; Kolb et Whishaw, 2002; Purves *et al.*, 2013) qui ne seront pas cités exhaustivement afin de faciliter la lecture.

Chez les mammifères, les afférences sensorielles sont acheminées par différentes voies parallèles et indépendantes jusqu'au néocortex où elles sont analysées afin de créer un percept sensoriel. L'organisation générale du néocortex de tous les mammifères est semblable. En effet, bien que leur taille relative puisse différer, tous les mammifères possèdent des aires visuelle (V1), auditive (A1) et somatosensorielle primaires (S1) (Fig. 1.1) (Krubitzer, 2009) situées respectivement au niveau des cortex occipital, temporal et pariétal. Ces zones homologues ont une connectivité semblable, et les neurones présents dans ces zones ont des propriétés similaires (Krubitzer, 2007).

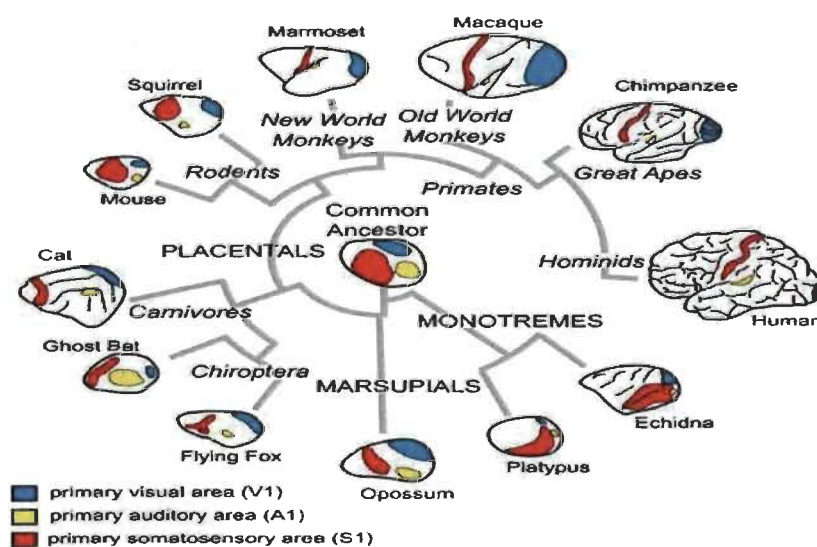


Figure 1.1 Relation phylogénétique entre les principaux représentants des différents groupes de mammifères.

Toutes les espèces étudiées jusqu'à maintenant possèdent des régions corticales dédiées au traitement de l'information sensorielle visuelle, auditive et somatosensorielle dont la taille relative et la localisation précise diffèrent. Tiré de Krubitzer 2009.

Au niveau cortical, les informations en provenance des organes sensoriels sont traitées selon un schéma général semblable et commun à tous les systèmes sensoriels. Les informations en provenance des voies sensorielles arrivent d'abord aux aires sensorielles primaires qui sont composées de neurones possédant des champs récepteurs de petite taille, ce qui leur permet d'effectuer un traitement simple de l'information (Kolb et Whishaw, 2002). Ces informations sont ensuite transmises aux aires secondaires, puis associatives qui intègrent et organisent l'information. Les cortex sensoriels sont donc organisés selon un modèle hiérarchique où les aires primaires sont à la base et les aires associatives, au sommet. On a longtemps cru que l'intégration simultanée des informations provenant de différents systèmes sensoriels se faisait uniquement au niveau des aires associatives. Selon ce modèle, les informations provenant des aires primaires et secondaires sont acheminées vers les aires associatives multimodales où elles sont intégrées pour ensuite être réacheminées dans les cortex de niveau hiérarchique inférieur par des connexions descendantes corticocorticales. Toutefois, ce modèle selon lequel seules les aires corticales de haut niveau sont multimodales a été contredit par des enregistrements électrophysiologiques dans le cortex visuel primaire mettant en évidence des interactions audiovisuelles trop rapides pour permettre l'ascension des informations provenant des différents sens jusqu'aux cortex associatifs, l'intégration multisensorielle et le retour de l'information au niveau du cortex visuel primaire (Giard et Peronnet, 1999). Plusieurs études ont par la suite démontré des interactions multimodales au niveau des aires sensorielles primaires chez différentes espèces (Wallace *et al.*, 2004; Budinger *et al.*, 2006; Ghazanfar et Schroeder, 2006; Bizley *et al.*, 2007).

1.3.1 Le système visuel

L'activité visuelle débute lors du captage d'un photon par les photorécepteurs de la rétine, lesquels transmettent l'information vers les cellules bipolaires qui projettent à leur tour vers les cellules ganglionnaires dont les axones forment les nerfs optiques. Une partie des fibres des nerfs optiques croisent la ligne médiane, formant une décussation importante, le chiasma optique (voir Figure 1.2). La proportion de fibres qui croisent la

ligne médiane au niveau du chiasma optique dépend de la position des yeux. Chez l'humain, les yeux sont en position frontale et environ la moitié des axones effectuent une décussation (Perry et Cowey, 1984) alors que chez la souris les yeux sont en position latérale et la très grande majorité des axones décussent (Drager et Olsen, 1980). Les fibres quittent le chiasma optique pour former le tractus optique qui se partage en deux voies visuelles ascendantes distinctes (voir Figure 1.3), la voie rétinotectale (système tectopulvinarien) et la voie rétinotectale (système tectopulvinarien).

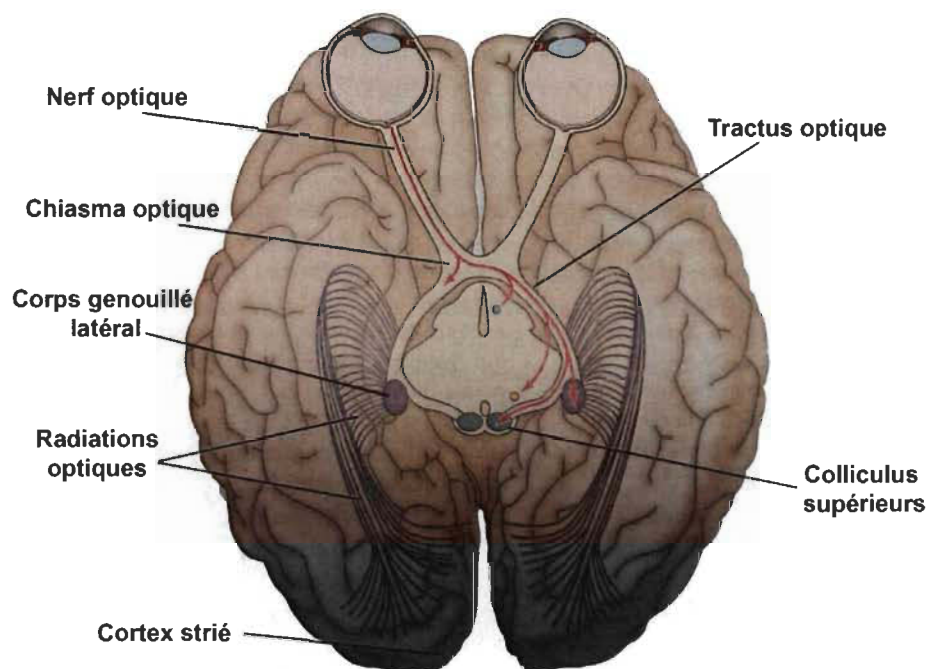


Figure 1.2 Trajet des projections rétino-fuges.
 Cette illustration du cerveau vue du dessous permet de visualiser le trajet des principales projections rétino-fuges (Bear *et al.*, 2000).

Les fibres de la voie rétinotectale atteignent le noyau genouillé latéral du thalamus. Ce noyau est à l'origine de la projection visuelle thalamocorticale qui atteint la couche IV du cortex visuel primaire (V1) situé dans le lobe occipital. Chez l'humain, il s'agit de la principale voie visuelle ascendante puisqu'elle regroupe environ 90 % des projections rétino-fuges (Nieuwenhuys *et al.*, 2008). Chez la souris, moins de 30 % des projections rétino-fuges suivent cette voie (Hofbauer et Drager, 1985).

Les fibres de la voie rétino-tectale projettent, elles, sur le colliculus supérieur, une partie importante du toit du mésencéphale. Les neurones du colliculus supérieur envoient ensuite des axones vers un noyau du thalamus postérieur, le pulvinar, dont les neurones projettent à leur tour vers les aires corticales extrastriées. Chez l'humain, moins de 10 % des axones provenant des cellules ganglionnaires de la rétine suivent la voie rétino-tectale alors que chez la souris, plus de 70 % des cellules ganglionnaires suivent cette voie (Hofbauer et Dräger, 1985).

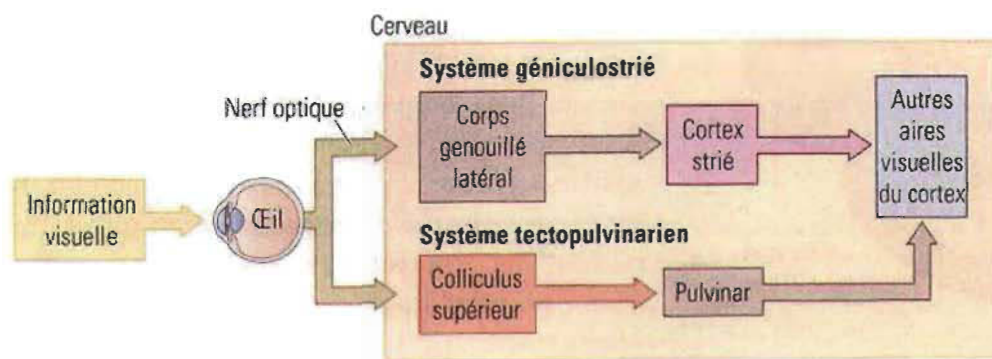


Figure 1.3 Principales voies visuelles ascendantes.

Les axones des cellules ganglionnaires qui forment le nerf optique se séparent en deux faisceaux de fibre distincts empruntant soit la voie rétinothalamique (système géniculostrié) ou la voie rétino-tectale (système tectopulvinarien) jusqu'aux aires visuelles du cerveau (Kolb et Whishaw, 2002).

Les aires visuelles corticales sont situées dans le lobe occipital, lequel est subdivisé en un cortex visuel primaire, aussi nommé cortex strié ou aire 17 de Brodmann, et un cortex visuel secondaire ou extrastrié contenant plusieurs aires. Les aires extrastriées sont organisées en deux voies distinctes : la voie dorsale et la voie ventrale (Ungerleider et Haxby, 1994; Ungerleider *et al.*, 1998). La voie ventrale achemine l'information visuelle vers le cortex temporal et permet l'identification d'objet alors que la voie dorsale transmet l'information visuelle vers les aires pariétales postérieures et est impliquée dans le traitement des informations spatiales et du mouvement. Ces deux voies convergent finalement vers le cortex préfrontal. Chez la souris, ces deux voies semblent aussi présentes (Wang *et al.*, 2011).

1.3.2 Le système auditif

Après avoir été amplifiées au niveau de l'oreille externe et moyenne, les vibrations sonores atteignent l'oreille interne où se trouvent les cellules ciliées de la cochlée qui transforment l'onde sonore en influx nerveux. Les cellules ciliées sont en contact avec des cellules bipolaires, dont les corps cellulaires forment le ganglion spiral et les axones forment le nerf cochléaire. L'information sonore est transmise jusqu'aux noyaux cochléaires dont les neurones envoient des projections, directes ou par l'intermédiaire de l'olive supérieure, vers les collicules inférieurs. Ces derniers acheminent l'information au corps genouillé médian, le principal centre auditif du thalamus. Les neurones du corps genouillé médian projettent finalement vers le cortex auditif primaire situé dans le lobe temporal (Figure 1.4).

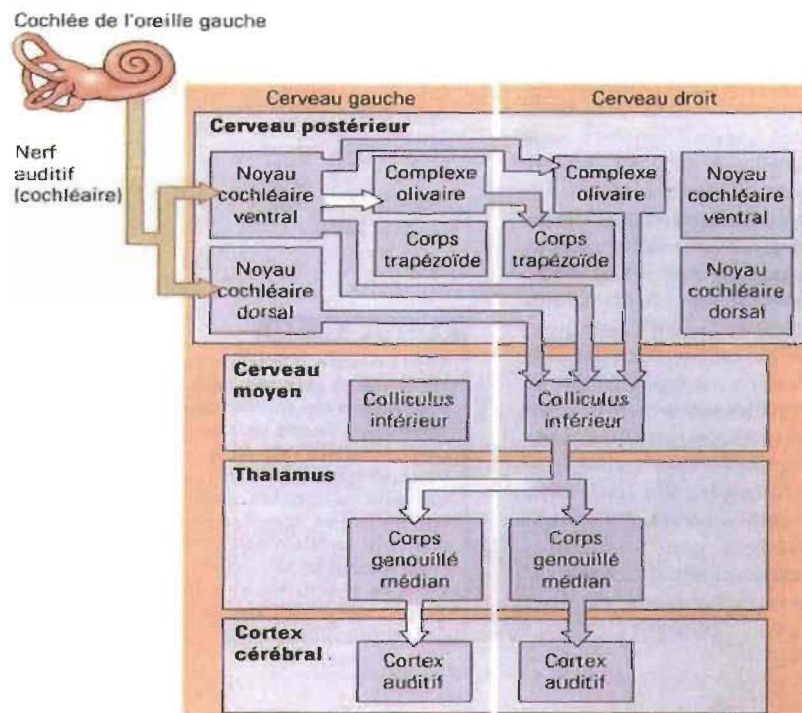


Figure 1.4 Trajet de l'information auditive.

Après avoir été transformées en influx nerveux par les cellules ciliées, les vibrations captées par une oreille passent par plusieurs noyaux avant d'être acheminées jusqu'au cortex auditif. Les signaux auditifs croisent la ligne médiane au niveau du tronc cérébral ainsi qu'au niveau du thalamus, ce qui permet le traitement simultané des informations perçues par les deux oreilles (Kolb et Whishaw, 2002).

1.3.3 Le système somatosensoriel

Les informations somesthésiques sont acheminées jusqu'au cortex suivant trois différentes voies, soit la voie lemniscale, qui transmet des informations de la sensibilité tactile discriminative et de la sensibilité proprioceptive consciente impliquée dans la localisation spatiale et temporelle du corps, la voie spinothalamique, qui transmet les informations tactiles grossières dites non-discriminative de même que les influx nociceptifs et thermiques, et la voie trigéminal qui assure le relais de l'information sensitive du visage au cortex somatosensoriel.

Chacune de ces voies est formée de trois neurones sensitifs, soit un périphérique et deux centraux. Le premier neurone sensitif est situé dans le ganglion spinal ou trigéminal dans le cas de la voie sensitive faciale. L'axone du premier neurone fait synapse soit dans la corne postérieure ipsilatérale de la moelle épinière, soit dans un noyau de la moelle allongée ipsilatérale. Le deuxième neurone est situé dans le système nerveux central, et son corps cellulaire se trouve soit dans la corne postérieure de la moelle épinière ou dans un noyau de la moelle allongée. L'axone de ce neurone effectue une décussation pour monter du côté contralatéral et fait synapse dans le cervelet ou le thalamus. Finalement, le troisième neurone est dans un noyau thalamique et son axone fait synapse sur des neurones du cortex cérébral ipsilatéral.

La voie trigéminal est la plus importante chez les souris puisqu'il s'agit d'un animal nocturne qui utilise abondamment ses vibrisses pour la localisation des objets présents dans son environnement ainsi que pour la discrimination des textures (Kleinfeld *et al.*, 2006). Chez plusieurs espèces de rongeurs ainsi que chez d'autres espèces (Woolsey *et al.*, 1975), les vibrisses activent une population spécifique de neurones localisés au niveau de la couche IV du cortex somatosensoriel primaire (S1). On retrouve ainsi une représentation somatotopique anatomiquement distincte de chacune des vibrisses contralatérales dans une région particulière nommée champs de tonneaux (Woolsey et Van der Loos, 1970).

1.4 La neuroplasticité

Le cerveau est un système dynamique soumis à l'influence de facteurs environnementaux, génétiques ou épigénétiques. Son fonctionnement dépend, entre autres de la combinaison des propriétés intrinsèques des neurones qui le composent, de la connectivité entre ces neurones et des propriétés de ces connexions. Ces caractéristiques sont modifiées au cours du développement en fonction des expériences affectives, psychiques, cognitives ou sensorielles vécues par un individu. Cette capacité du réseau neuronal à se modifier en fonction de l'expérience, la neuroplasticité, résulte d'un ensemble de mécanismes qui modifient la force ou l'efficacité de la transmission synaptique en agissant sur le développement de connexions synaptiques ou en modulant l'excitabilité des neurones. Ces mécanismes structuraux et physiologiques sont responsables des capacités d'apprentissage et de mémorisation, mais aussi des modifications corticales observées lors de l'altération de l'expérience sensorielle.

Le néocortex est particulièrement susceptible aux changements neuroplastiques puisqu'il exécute des tâches motrices, sensorielles et cognitives nécessitant une bonne capacité d'apprentissage. Le développement des aires corticales sensorielles est fortement influencé par l'expérience sensorielle (Gilbert, 1998; Dan et Poo, 2006; Han *et al.*, 2007). La perte d'un sens comme la vision modifie l'activité afférente dans les différents cortex sensoriels et induit ainsi des changements neuroplastiques. L'ampleur de ces changements dépend fortement de plusieurs facteurs critiques tels que la cause de privation visuelle, l'âge à laquelle elle survient et sa durée. En effet, la perte de vision entraîne des changements plus importants lorsqu'elle survient tôt au cours du développement et qu'elle est maintenue durant une longue période de temps, au-delà d'un certain stade du développement, soit pendant une phase nommée période critique de plasticité. De plus, lorsque la perte de vision survient tôt au cours du développement, le cortex visuel est davantage susceptible d'être pris en charge par les modalités sensorielles subsistantes, par des mécanismes de plasticité intermodale (Bavelier et Neville, 2002).

Dans cette section, les deux principaux mécanismes neuroplastiques responsables des modifications dans les différents cortex sensoriels de même que leur contribution respective aux changements observés dans le néocortex suite à la perte de vision seront décrits. Par la suite, la notion de période critique de plasticité sera abordée. Finalement, une forme particulière de plasticité observée chez les individus privés d'un sens, la plasticité intermodale, sera décrite.

1.4.1 Les mécanismes de plasticité

Les mécanismes responsables des modifications observées dans le néocortex suite à l'altération de l'activité sensorielle peuvent être divisés en deux catégories, soit les mécanismes de type Hebbien, et les mécanismes homéostatiques (Desai *et al.*, 2002; Heynen *et al.*, 2003; Crozier *et al.*, 2007; Goel et Lee, 2007; Maffei et Turrigiano, 2008; Feldman, 2009). Ces deux types de mécanismes neuroplastiques agissent principalement en modifiant la quantité et la composition des récepteurs glutamatergiques présents à la synapse. Toutefois, ils se distinguent par le fait que les mécanismes de plasticité Hebbiens affectent les synapses individuellement alors que les mécanismes de plasticité homéostatique agissent plus globalement afin de stabiliser l'activité de l'ensemble d'un réseau neuronal (Turrigiano et Nelson, 1998). Par ailleurs, les mécanismes de plasticité Hebbiens interviennent généralement rapidement, dans les minutes ou les heures qui suivent les stimulations alors que les mécanismes de plasticité homéostatiques surviennent lorsque l'activité d'un réseau neuronal est fortement augmentée ou diminuée pendant une longue période ($> \sim 12-24$ heures) (Citri et Malenka, 2008). La connaissance de ces mécanismes est nécessaire à la compréhension de notre travail puisqu'il s'agit des principaux mécanismes responsables de la régulation de l'activité et de la modification de l'expression des sous-unités des récepteurs glutamatergiques dans les différents cortex sensoriels primaires.

1.4.1.1 Mécanismes Hebbiens

La théorie Hebbienne de plasticité a d'abord été suggérée en 1949 par Donald Olding Hebb pour expliquer les mécanismes responsables des capacités d'apprentissage et de mémorisation (Hebb, 1949). Depuis, une multitude d'études ont mis en évidence l'implication des mécanismes Hebbiens de plasticité dans les modifications de la force synaptique au cours du développement et de la maturation des circuits neuronaux lors de la perte de vision. Le postulat de Hebb stipule que la dépolarisation simultanée d'un neurone présynaptique et d'un neurone postsynaptique mène à un renforcement des synapses qui les relient. Ainsi, lorsque l'activation d'une synapse est corrélée de façon persistante avec une forte réponse postsynaptique, la transmission synaptique à cette synapse est renforcée. Dans le cas contraire, lorsque l'activité d'une synapse n'est pas corrélée à celle du neurone postsynaptique, la synapse s'affaiblit ou est éliminée. Les deux mécanismes Hebbiens de plasticité les plus étudiés sont la potentialisation à long terme (PLT) et la dépression à long terme (DLT), qui mènent respectivement à une augmentation et à une diminution de l'efficacité de la transmission synaptique (Bliss et Lomo, 1973; Bear et Malenka, 1994).

Bien que d'autres formes de PLT existent (Sjostrom *et al.*, 2008), celle-ci est généralement dépendante de l'activité des récepteurs NMDA et survient suite à des stimulations à haute fréquence. Lors de la PLT, l'entrée massive de calcium dans la dendrite par les récepteurs NMDA à une synapse provoque l'activation des protéines kinase comme la protéine kinase Ca^{2+} /calmoduline-dépendante II (CaMKII). Cela entraîne la phosphorylation des récepteurs AMPA favorisant ainsi l'insertion de récepteurs AMPA possédant la sous-unité GluR1 à la synapse centrale (Malinow et Malenka, 2002; Malenka, 2003), ce qui a pour effet de renforcer la transmission synaptique. Les modifications engendrées par la PLT surviennent rapidement, dans les minutes suivant l'induction de celle-ci. Il existe aussi une phase tardive de la PLT, définie comme étant la potentiation présente d'une à deux heures après l'induction de celle-ci. La phase tardive de la PLT dépend de la synthèse locale de protéines au niveau de la dendrite, (Reymann et Frey, 2007) dont les sous-unités des récepteurs AMPA ainsi

que différentes protéines impliquées dans la régulation du transport et de la stabilisation des récepteurs synaptiques (Steward et Schuman, 2001; Ju *et al.*, 2004; Grooms *et al.*, 2006; Schuman *et al.*, 2006).

Inversement, la DLT survient lors de stimulations à basse fréquence. Tout comme pour la PLT, il existe plusieurs formes de DLT (Malenka et Bear, 2004; Massey et Bashir, 2007; Sjostrom *et al.*, 2008). Dans la forme de DLT dépendante des récepteurs NMDA, le manque de corrélation entre l'activation du neurone présynaptique et la dépolarisation du neurone postsynaptique ne provoque qu'une faible activation des récepteurs NMDA. La lente et modeste entrée de calcium au niveau postsynaptique qui en résulte initie une cascade d'événements moléculaires impliquant des protéines phosphatases comme la calcineurine, entraînant une déphosphorylation à certains sites spécifiques des sous-unités GluR1 des récepteurs AMPA et l'internalisation de ces récepteurs (Linden et Connor, 1995; Malenka et Bear, 2004). Ainsi dépourvues de plusieurs récepteurs AMPA, ces synapses perdent alors leur influence sur les neurones postsynaptiques. L'effet de la PLT et de la DLT sur la localisation et la quantité des récepteurs AMPA est schématisé dans la figure 1.5 ci-dessous.

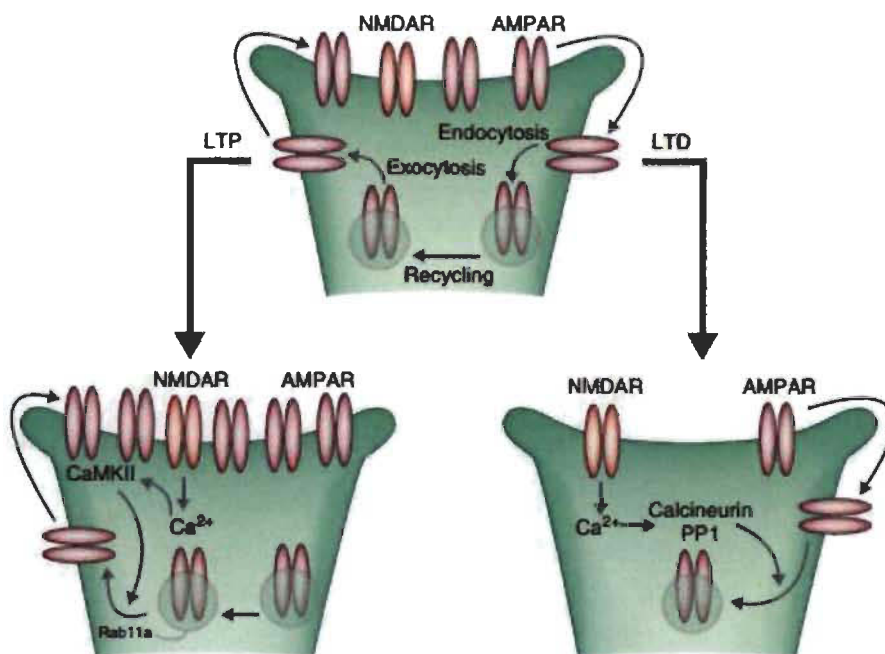


Figure 1.5 Exemple de mécanismes Hebbiens de plasticité

Circulation des récepteurs AMPA lors de la PLT (à gauche) et de la DLT (à droite). Lors de la PLT, la forte entrée de calcium favorise l'exocytose des récepteurs AMPA et entraîne une augmentation de la quantité de ceux-ci à la synapse, ce qui augmente la transmission synaptique. Au contraire, lors de la DLT, la faible entrée de calcium provoque l'endocytose des récepteurs AMPA à la synapse, ce qui diminue la transmission synaptique à cette synapse (Citri et Malenka, 2008).

L'exemple le plus évident de plasticité Hebbienne dans le cortex visuel est la plasticité de la dominance oculaire, soit la modification rapide de la circuiterie corticale qui survient lorsque l'activité provenant des deux yeux est débalancée (Hubel et Wiesel, 1963). Le cortex visuel primaire des rongeurs contient des régions binoculaires, soit des zones formées de neurones recevant des afférences provenant des deux yeux. Au cours du développement normal, les synapses des neurones binoculaires qui transmettent des influx corrélés temporellement en provenance des deux yeux sont potentialisées, ce qui mène au maintien et au renforcement de ces synapses, alors que celles dont l'activité n'est pas corrélée sont dépotentialisées et normalement éliminées. Lorsque l'activité en provenance d'un des deux yeux est réduite ou bloquée pendant le développement, la réponse des neurones de la région binoculaire est modifiée en faveur de l'œil intact. Ce changement de la réponse des neurones de la zone binoculaire du cortex visuel se

produit en deux étapes, d'abord un affaiblissement des connexions provenant de l'œil dont l'activité a été altérée suivi d'un renforcement des connexions provenant de l'œil intact. La plasticité de la dominance oculaire semble donc résulter en partie de mécanismes de rétroaction positive de type Hebbiens, la dépression des influx provenant de l'œil dont l'activité a été altérée résultant de la DLT alors que la potentiation de l'œil intact serait causée par la PLT (Whitt *et al.*, 2013).

Ces modifications neuroplastiques Hebbiennes du cortex visuel semblent toutefois limitées à une certaine période développementale. Par exemple, l'aptitude à induire la DLT dans le cortex visuel diminue au cours du développement (Jiang *et al.*, 2007). Conséquemment, lorsque la perte de vision monoculaire survient tardivement au cours du développement, on n'observe pas de dépression des influx provenant de l'œil dont l'activité est altérée (Sawtell *et al.*, 2003) et la privation monoculaire à l'âge adulte entraîne peu d'effets sur la dominance oculaire (Hubel et Wiesel, 1970; Olson et Freeman, 1980).

Certaines modifications neuroplastiques du cortex visuel ne s'expliquent pas par des mécanismes Hebbiens de plasticité. D'abord, bien que les influx en provenance de l'œil dont l'activité est altérée soient diminués, ils ne sont pas complètement éliminés (Tropea *et al.*, 2009), comme on s'y attendrait dans le cas d'un mécanisme Hebbien. Par ailleurs, si seuls les mécanismes de type Hebbiens contribuaient à la neuroplasticité du cortex visuel, on devrait s'attendre à une perte totale de la réponse des neurones du cortex visuel lors des expériences de privation binoculaire. Or, la majorité des neurones peuvent toujours répondre aux stimuli visuels lorsque l'activité des deux yeux est altérée simultanément (Wiesel et Hubel, 1965) et la réponse des neurones monoculaires répondant normalement seulement aux stimuli provenant de l'œil altéré est même augmentée (Desai *et al.*, 2002; Mrsic-Flogel *et al.*, 2007). Ces résultats suggèrent que le maintien ou l'élimination des synapses dépend d'une compétition entre celles-ci où celles dont l'activité est la mieux corrélée sont maintenues alors que les autres sont éliminées par des mécanismes Hebbiens.

1.4.1.2 Mécanismes homéostatiques

D'autres mécanismes, non-Hebbiens, contribuent aussi à la plasticité du cortex visuel en agissant globalement au niveau de l'activité du réseau neuronal plutôt que localement au niveau de la synapse, permettant ainsi de conserver un certain niveau d'activité dans le cortex visuel même lorsque l'activité visuelle est complètement éliminée.

Les réseaux neuronaux du néocortex sont soumis à deux forces opposées, soit la nécessité de changement et le besoin de stabilité. Les mécanismes Hebbiens de plasticité entraînent d'importants changements de la force de certaines synapses en fonction de l'activité et permettent ainsi aux circuits nerveux d'être façonnés par l'expérience et lors de l'apprentissage. Par ailleurs, dans le néocortex, la force synaptique et l'excitabilité neuronale sont stabilisées dynamiquement par des mécanismes de plasticité homéostatiques, qui permettent de conserver l'activité neuronale moyenne à un niveau optimal pour la détection et le traitement de l'information sensorielle malgré les fluctuations environnementales externes. Sans cette régulation homéostatique des circuits neuronaux, les autres formes de plasticité Hebbiennes plus rapides et régies par la rétroaction positive comme la PLT ou la DLT risqueraient d'occasionner la dégradation du signal dans les circuits neuronaux, menant à une éventuelle incapacité neuroplastique Hebbienne (Turrigiano et Nelson, 2004). En effet, tel que décrit dans la section précédente, lors de la PLT, l'activité corrélée d'un neurone présynaptique et d'un neurone postsynaptique favorise la transmission synaptique entre ces neurones par l'incorporation de récepteurs AMPA à la synapse centrale. Or, l'incorporation de ces récepteurs à la synapse entraîne une augmentation de la probabilité que la relâche de neurotransmetteur au niveau présynaptique soit corrélée avec une dépolarisation du neurone postsynaptique, ce qui provoque encore plus de PLT et ainsi de suite. Sans les mécanismes de contrôle homéostatique, la PLT peut établir une boucle de rétroaction positive qui peut entraîner un emballement de l'activité des circuits. La plasticité homéostatique permet donc de stabiliser le niveau d'excitabilité des neurones d'un circuit (Figure 1.6).

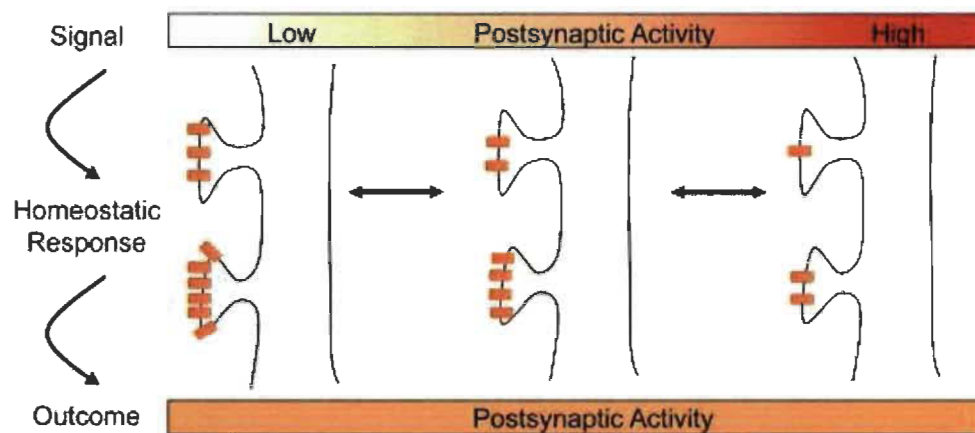


Figure 1.6 Exemple de mécanisme de plasticité homéostatique.

Lorsque le neurone postsynaptique est fortement activé pendant une période prolongée, la quantité de récepteurs AMPA et NMDA présents à la synapse centrale est diminuée, alors que lorsqu'il n'est que faiblement activé pendant une longue période, la quantité de récepteurs à la synapse est augmentée, de sorte que l'activité du neurone postsynaptique reste toujours relativement constante (Watt et Desai, 2010).

La rétroaction négative globale des neurones d'un circuit par les mécanismes de plasticité homéostatique a d'abord été mise en évidence *in vitro* en diminuant l'activité d'un réseau cortical, causant une augmentation uniforme et multiplicative de la force des synapses excitatrices (Turrigiano *et al.*, 1998). Dans le néocortex, cet ajustement proportionnel de la force synaptique (synaptic scaling) se manifeste essentiellement par la régulation de l'insertion des récepteurs AMPA à la synapse (O'Brien *et al.*, 1998; Turrigiano et Nelson, 2004). Les mécanismes de plasticité homéostatiques affectent aussi les récepteurs NMDA, dans une forme de plasticité appelée métaplasticité. La métaplasticité, qu'on peut résumer comme étant la plasticité de la plasticité, est un mécanisme de plasticité homéostatique qui entraîne une modification de la composition des récepteurs NMDA, favorisant ceux formés de la sous-unité NR2B (Abraham et Bear, 1996). Cela entraîne une modification des niveaux de stimulation nécessaires pour induire la PLT et la DLT. Par ailleurs, l'excitabilité intrinsèque et l'équilibre excitation-inhibition sont aussi régulés homéostatiquement (Feldman, 2009).

Plusieurs études suggèrent l'implication des mécanismes de plasticité homéostatiques dans les changements de la réponse neuronale aux stimuli sensoriels suite à l'utilisation accrue ou la privation d'un sens (Desai *et al.*, 2002; Maffei *et al.*, 2004; Mrsic-Flogel *et al.*, 2007). Par exemple, au niveau de la région monoculaire du cortex visuel primaire, la suture de l'œil controlatéral entraîne une forte diminution de l'activité sensorielle, ce qui mène à une augmentation de l'excitabilité neurones de ces circuits corticaux ainsi qu'une augmentation de l'activité spontanée (Desai *et al.*, 2002; Maffei *et al.*, 2004). Plusieurs mécanismes de plasticité homéostatiques pourraient être impliqués dans les modifications biochimiques du cortex visuel survenant lors de la privation d'activité visuelle durant une période prolongée de temps, dont le *synaptic scaling*, la modification dans les circuits inhibiteurs ainsi que la modification de l'excitabilité intrinsèque (Maffei et Turrigiano, 2008). Ces mécanismes de plasticité homéostatiques pourraient contribuer à contrebalancer l'affaiblissement des afférences sensorielles en provenance de la modalité altérée (Feldman, 2009). Selon ce modèle, la perte d'afférences visuelle entraînerait un affaiblissement rapide de la transmission synaptique des circuits neuronaux de cette modalité par des mécanismes Hebbiens, puis une augmentation plus lente, par des mécanismes de plasticité homéostatique, de la force globale des synapses et/ou de l'excitabilité intrinsèque des neurones chargés de la transmission des influx sensoriels en provenance des modalités subsistantes comme l'audition et le toucher par exemple (Feldman, 2009).

Somme toute, des modifications de la biochimie corticale peuvent être occasionnées tant par les mécanismes de plasticité Hebbienne que par les mécanismes de plasticité non Hebbienne comme la plasticité homéostatique. Ces deux types de mécanismes agissent principalement en modifiant la quantité et la composition des récepteurs synaptiques du glutamate présents à la synapse.

1.4.2 Période critique

Le potentiel neuroplastique dépend grandement du stade développemental. Chez la majorité des animaux, les principales voies sensorielles sont immatures à la naissance,

puis elles se raffinent pendant une période critique de plasticité. Durant cette période, généralement brève et qui survient tôt au cours du développement postnatal, les circuits neuronaux sont très malléables, ce qui permet le raffinement des connexions neuronales. Ce raffinement nécessite la présence d'activité en provenance des organes sensoriels (Chapman et Stryker, 1993; Cramer et Sur, 1995; Katz et Shatz, 1996; Berardi *et al.*, 2003; Levelt et Hubener, 2012). Après la période critique, les connexions du réseau cortical ainsi que les propriétés des neurones de ces réseaux sont matures et les mécanismes neuroplastiques deviennent moins efficaces, bien que certains changements neuroplastiques puissent toujours survenir.

L'existence d'une période critique de plasticité a d'abord été mise en évidence dans le cortex visuel de chats ayant subi une énucléation monoculaire (Wiesel et Hubel, 1963b). Depuis, des périodes critiques, différentes dans leur durée et l'âge à laquelle elles surviennent, ont été observées dans tous les cortex sensoriels (Hubel et Wiesel, 1970; Aramakis *et al.*, 2000; Feldman, 2001; Barkat *et al.*, 2011; Erzurumlu et Gaspar, 2012), chez plusieurs animaux et pour différentes fonctions corticales (Berardi *et al.*, 2000; Hensch, 2004; Hensch, 2005). Par exemple, chez la souris, l'altération de l'activité en provenance d'un des deux yeux entraîne des changements plus importants dans la région binoculaire du cortex visuel si elle survient entre le 28^e et le 32^e jour suivant la naissance (Gordon et Stryker, 1996). Cette période est donc considérée comme la période critique de plasticité pour la dominance oculaire chez la souris. Le moment précis de l'ouverture et la durée de la période critique ne sont pas immuables. En effet, des études ont démontré que l'initiation et la durée de la période critique ne dépendent pas seulement de l'âge, mais aussi de l'expérience sensorielle préalable. Ainsi, si l'activité sensorielle n'est pas présente au moment opportun, l'initiation de la période critique est retardée. Par exemple, l'absence d'activité visuelle afférente par l'élevage à l'obscurité retarde l'initiation de la période critique de plasticité dans le cortex visuel (Mower et Christen, 1985; Mower, 1991; Gordon et Stryker, 1996; Guire *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2000; Iwai *et al.*, 2003) ainsi que la maturation des fonctions des neurones du cortex visuel (Fagiolini *et al.*, 1994).

Plusieurs modifications biochimiques surviennent lors de la période critique de plasticité dans le néocortex (Hensch, 2004). Des études ont mis en évidence des différences de la composition des récepteurs excitateurs et inhibiteurs qui surviennent durant cette période. L'un de ceux-ci est le changement des récepteurs NMDA, dont la quantité de récepteurs formés de la sous-unité NR2A augmente durant la période critique de sorte que le rapport entre les récepteurs formés de cette sous-unité et ceux formés de la sous-unité NR2B augmente progressivement jusqu'à atteindre un maximum au milieu de la période critique (voir section 1.5.2 pour les détails). Ce changement de la composition des récepteurs NMDA durant la période critique de plasticité a été observé chez plusieurs espèces, dont le chat (Chen *et al.*, 2000), le furet (Roberts et Ramoa, 1999), le rat (Carmignoto et Vicini, 1992) et la souris (Yashiro *et al.*, 2005; Chen et Bear, 2007) et survient aussi lors des périodes critiques dans les autres cortex (Lu *et al.*, 2001; Nordeen et Nordeen, 2004; Mao *et al.*, 2006). De plus, tout comme l'initiation de la période critique de plasticité, l'augmentation du rapport NR2A/NR2B est aussi retardée chez les animaux élevés à l'obscurité (Nase *et al.*, 1999; Quinlan *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2000; Chen et Bear, 2007). Ce retard n'est pas immuable puisque l'augmentation du rapport NR2A/NR2B peut se faire rapidement si l'animal élevé à l'obscurité est exposé à la lumière après l'âge où survient normalement cette augmentation (Quinlan *et al.*, 1999). Par contre, bien que la modification de la composition des récepteurs NMDA soit corrélée avec la fin de la période critique de plasticité, les études avec des animaux déficients pour la sous-unité NR2A ont démontré que la période critique se terminait normalement malgré l'absence de récepteurs formés de cette sous-unité (Lu *et al.*, 2001; Fagiolini *et al.*, 2003), ce qui signifie que cette modification n'est pas nécessaire à la fermeture de la période critique mais simplement corrélée temporellement.

Plusieurs études ont démontré d'importants changements anatomiques (Callaway et Katz, 1991; Price *et al.*, 1994; Gordon et Stryker, 1996; Antonini *et al.*, 1999; Karlen et Krubitzer, 2009), électrophysiologiques (Carmignoto et Vicini, 1992; Fagiolini *et al.*, 1994; Kirkwood *et al.*, 1995; Philpot *et al.*, 2001; Maffei *et al.*, 2004; Yashiro *et al.*, 2005) et biochimiques (Neve et Bear, 1989; Carmignoto et Vicini, 1992; Castren *et al.*,

1992; Chen *et al.*, 2000; Desai *et al.*, 2002; Cotrufo *et al.*, 2003; Yashiro *et al.*, 2005; Goel *et al.*, 2006; Chen et Bear, 2007; Goel *et al.*, 2011) dans le cortex visuel lorsque l'activité visuelle est altérée durant la période critique. Parmi les changements biochimiques, des modifications importantes de la composition des récepteurs NMDA (Carmignoto et Vicini, 1992; Quinlan *et al.*, 1999; Berardi *et al.*, 2000; Philpot *et al.*, 2001; Yashiro *et al.*, 2005) mais aussi des récepteurs AMPA (Goel *et al.*, 2006; Goel *et al.*, 2011) ont été observées. La nature exacte de ces modifications sera détaillée dans la section 1.5.

Très peu d'études se sont intéressées à la modification de la composition de ces récepteurs lorsque la privation visuelle est maintenue longtemps après la fin de la période critique de plasticité. De plus, aucune de ces études ne s'est intéressée spécifiquement à savoir si la plasticité intermodale, dont il sera question dans la prochaine section, permet le déroulement normal des modifications biochimiques associées à la période critique dans le cortex visuel de souris privées visuellement, ce que nos modèles expérimentaux nous permettent de faire.

1.4.3 Plasticité intermodale

Plusieurs études ont démontré, chez les aveugles, des habiletés supérieures dans l'exécution de certaines tâches auditives (Niemeyer et Starlinger, 1981; Lessard *et al.*, 1998; Roder *et al.*, 2004) et tactiles (Van Boven *et al.*, 2000; Goldreich et Kanics, 2003). L'âge auquel survient la perte de vision influence le développement de ces aptitudes supérieures. En effet, l'amélioration des capacités auditives et tactiles est plus marquée chez les individus ayant perdu la vision à un jeune âge (Bavelier et Neville, 2002; Gougoux *et al.*, 2004), avant la fermeture des périodes critiques de plasticité pour les différentes fonctions visuelles, qui surviennent à différents moments, mais qui sont toutes terminées au début de l'adolescence (Lewis et Maurer, 2005). Ces capacités accrues suggèrent que l'altération de l'activité visuelle afférente pendant la période critique entraîne des modifications au niveau des aires corticales sensorielles non visuelles ou de l'interaction entre celles-ci et l'aire visuelle. Cette forme de plasticité qui

modifie la relation entre deux ou plusieurs modalités sensorielles suite à une privation sensorielle est dite intermodale.

Il a été démontré que le cortex visuel d'individus aveugles est activé par des stimulations auditives (Leclerc *et al.*, 2000; Renier *et al.*, 2010; Renier *et al.*, 2013) et tactiles (Sadato *et al.*, 1996). Les capacités supérieures des aveugles dans certaines tâches de discrimination tactiles et auditives semblent résulter du recrutement des aires corticales visuelles pour le traitement d'informations non visuelles puisque l'inactivation du cortex visuel par des stimulations magnétiques transcrâniennes altère leur capacité à lire le braille (Cohen *et al.*, 1997). La capacité d'un cortex sensoriel à traiter les informations provenant d'une autre modalité sensorielle a d'ailleurs été démontrée dans certains modèles animaux chez lesquels la croissance des circuits a été induite chirurgicalement (Frost *et al.*, 2000; von Melchner *et al.*, 2000). De plus, des études ont aussi mis en évidence une expansion des aires corticales auditives (Elbert *et al.*, 2002) et somatosensorielles chez les aveugles (Pascual-Leone et Torres, 1993; Sterr *et al.*, 1998a; Sterr *et al.*, 1998b). Ainsi, l'absence d'activité visuelle entraîne un remodelage des différents cortex sensoriels et modifie les interactions entre eux.

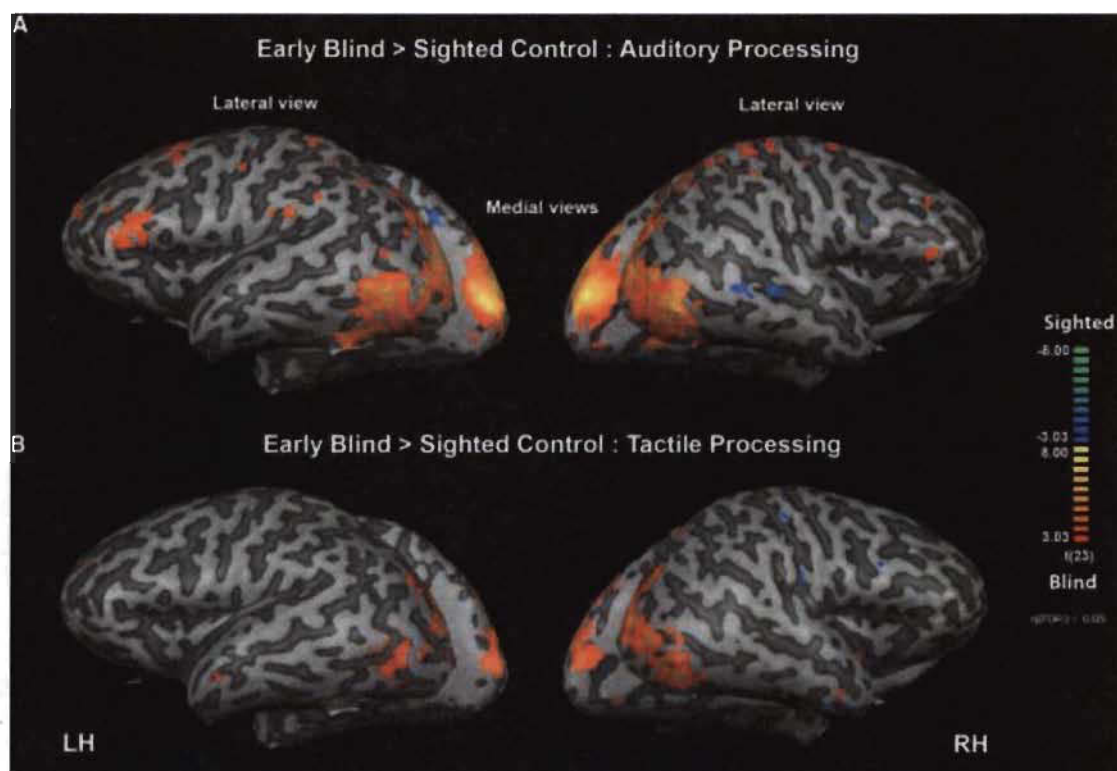


Figure 1.7 Activation intermodale du cortex visuel primaire chez les aveugles précoces.

Les résultats d'imagerie fonctionnelle montrent une plus grande activation du cortex occipital, normalement associé au traitement de l'information visuelle, chez les individus aveugles depuis la naissance lors de l'exécution de tâches (A) auditive et (B) tactile (Renier *et al.*, 2010).

Dans les modèles animaux, la perte de la vision a des conséquences anatomiques et fonctionnelles comparables à celles observées chez l'humain. Par exemple, au niveau comportemental, les chats et les furets aveugles performant mieux que les voyants dans certaines tâches de discrimination auditive (Rauschecker et Kniepert, 1994; King et Parsons, 1999) et les rats énucléés à la naissance performant mieux que les rats voyants dans une tâche nécessitant l'utilisation de leurs vibrisses (Toldi *et al.*, 1994). Par ailleurs, au point de vue fonctionnel, les études ont démontré, comme chez l'humain, que le cortex visuel d'animaux aveugles peut être activé par des stimulations auditives (Morrell, 1972; Yaka *et al.*, 2000; Bronchti *et al.*, 2002; Izraeli *et al.*, 2002; Chabot *et al.*, 2007) ou tactiles (Toldi *et al.*, 1996; Kahn et Krubitzer, 2002). La privation visuelle chez les animaux modifie aussi la taille et l'organisation des aires visuelle, (Hubel et

Wiesel, 1977; Price *et al.*, 1994; Karlen et Krubitzer, 2009) auditive (Gyllensten *et al.*, 1966; Ryugo *et al.*, 1975; Rauschecker et Korte, 1993) et somatosensorielle (Bronchti *et al.*, 1992; Rauschecker *et al.*, 1992; Toldi *et al.*, 1994; Karlen et Krubitzer, 2009) primaires.

Les mécanismes de plasticité intermodale peuvent agir sur les réseaux neuronaux en entraînant un remodelage structurel en favorisant la prolifération ou la suppression des connexions neuronales, ou fonctionnel, en modifiant la force et l'efficacité de connexions existantes. Ainsi, pour expliquer la prise en charge intermodale du cortex visuel chez l'aveugle, il a été proposé que la privation sensorielle pourrait, d'une part, induire la croissance de nouvelles connexions corticales ou sous-corticales (Bavelier et Neville, 2002), ou d'autre part, qu'elle pourrait amplifier ou démasquer des connexions neuronales existantes (Pascual-Leone *et al.*, 2005), ces propositions n'étant pas mutuellement exclusives.

La présence de connexion corticocorticales directes entre le cortex visuel et les aires sensorielles non visuelles a été démontrée chez plusieurs animaux (Hall et Lomber, 2008; Campi *et al.*, 2010; Borra et Rockland, 2011; Charbonneau *et al.*, 2012) ainsi que chez l'humain (Beer *et al.*, 2011). Par ailleurs, une réorganisation des connexions sous-corticale a aussi été observée chez les souris anophtalmes (Chabot *et al.*, 2008). Chez ces souris, le cortex visuel primaire peut être activé par des stimulations auditives alors que ce n'est pas le cas chez les souris énucléées à la naissance (Chabot *et al.*, 2007). La prise en charge intermodale du cortex visuel chez cette souris pourrait provenir d'une projection du collicule inférieur au corps genouillé latéral (Chabot *et al.*, 2008) ou d'une connexion cortico-corticale directe (Charbonneau *et al.*, 2012) ou indirecte (Laramée *et al.*, 2011) entre les cortex visuel et auditif.

Ainsi, la prise en charge intermodale du cortex occipital par les modalités sensorielles subsistantes pourrait résulter soit d'une plus grande quantité de ces connexions corticales ou sous-corticales chez les aveugles, soit d'une augmentation de la transmission synaptique dans les connexions déjà existantes. Cette seconde hypothèse

est particulièrement intéressante, puisqu'une étude chez des individus voyants dont les yeux ont été bandés a permis de démontrer qu'une perte d'afférences visuelles de 5 jours était suffisante pour permettre une amélioration de la capacité de discriminer des symboles de braille tant chez les individus entraînés (Merabet *et al.*, 2008) que non entraînés (Kauffman *et al.*, 2002). De plus, chez ces individus, le cortex visuel était aussi activé lors de cette tâche (Merabet *et al.*, 2008). Ces études démontrent que l'amélioration des capacités tactiles et l'activation intermodale du cortex visuel chez les aveugles sont trop rapides pour être expliqué par la croissance et la formation de nouvelles connexions, suggérant plutôt une facilitation de la transmission synaptique excitatrice dans les connexions déjà existantes. Or, tel que mentionné dans les sections précédentes, les deux principaux types mécanismes susceptibles d'entraîner des modifications de la force de la transmission synaptique de connexions existantes dans le néocortex sont les mécanismes Hebbiens et les mécanismes homéostatiques, qui agissent principalement sur la quantité, la composition et la localisation des récepteurs glutamatergiques.

1.5 Récepteurs du glutamate

Le glutamate est le principal neurotransmetteur excitateur dans le système nerveux central des vertébrés. Les récepteurs sensibles à ce neurotransmetteur se divisent en deux catégories, soit les récepteurs métabotropes et les récepteurs ionotropes, auxquels nous nous sommes intéressés pour cette étude.

Les récepteurs ionotropes au glutamate sont des récepteurs-canaux cationiques formant des hétérotétramères (Sobolevsky *et al.*, 2009). Les synapses excitatrices du cerveau des mammifères contiennent principalement deux types de récepteurs ionotropes au glutamate, soit les récepteurs activés spécifiquement par le N-méthyl-D-aspartate (NMDA) et ceux activés par le α -amino-3-hydroxy-5-méthylisozazol-4-propionate (AMPA). Ces deux types de récepteurs, NMDA et AMPA peuvent se retrouver simultanément à une même synapse et tous les deux sont fortement impliqués dans les divers mécanismes de plasticité synaptique (Berardi *et al.*, 2003; Malenka,

2003). La localisation synaptique précise, soit au niveau de la synapse centrale ou en périphérie de celle-ci, ainsi que les propriétés électrophysiologiques de ces récepteurs est fortement dépendante des sous-unités qui les composent (Kennedy et Ehlers, 2006; Derkach *et al.*, 2007; Lau et Zukin, 2007; Shepherd et Huganir, 2007). Plusieurs études démontrent une modification de la quantité, de la composition et de la localisation de ces récepteurs en fonction de l'expérience sensorielle (Watt *et al.*, 2000; Yashiro *et al.*, 2005; Goel *et al.*, 2006). Dans cette section, nous verrons comment l'absence d'activité visuelle modifie la composition des récepteurs AMPA et NMDA dans les différents cortex sensoriels.

1.5.1 Récepteurs AMPA

Les récepteurs AMPA sont les principaux responsables de la transmission de la vaste majorité des courants excitateurs synaptiques rapide (~2ms) (Kleppe et Robinson, 1999). Bien qu'ils puissent former des homotétramères fonctionnels, (Rosenmund *et al.*, 1998) leur forme native est généralement hétérotétramérique (Lu *et al.*, 2009).

Chez les mammifères, quatre différentes sous-unités assemblées sous forme de dimère de dimère (Mayer, 2006), GluR1-4, peuvent former ces récepteurs (Borges et Dingledine, 1998). Les sous-unités GluR1 et GluR2 sont celles dont l'abondance relative au niveau du néocortex est la plus importante alors que les sous-unités GluR3 et GluR4 ne sont que faiblement exprimées (Monyer *et al.*, 1991; Craig *et al.*, 1993; Geiger *et al.*, 1995). La majorité des récepteurs AMPA du système nerveux central contiennent la sous-unité GluR2 (Wenthold *et al.*, 1996; Greger *et al.*, 2002).

Les propriétés fonctionnelles de ces récepteurs dépendent grandement des sous-unités qui les composent. Par exemple, l'amplitude des courants post-synaptiques excitateurs engendrés par les récepteurs AMPA est plus grande lorsque les récepteurs sont formés de la sous-unité GluR1 plutôt que de la sous-unité GluR2 (Gereau et Swanson, 2008). Ainsi, la transmission synaptique est favorisée lorsque les récepteurs AMPA contiennent la sous-unité GluR1. D'autre part, la présence de la sous-unité

GluR2 est particulièrement déterminante pour établir les propriétés biophysiques de ces récepteurs. En effet, le changement d'un résidu d'acide glutamique non chargé pour un résidu arginine chargé positivement dans cette protéine rend les récepteurs formés de cette sous-unité imperméable au calcium et insensible au blocage par des polyamines intracellulaires (voir Figure 1.8). Ils montrent ainsi une relation courant voltage linéaire, contrairement aux récepteurs formés des sous-unités GluR1, 3 et 4 qui montrent une rectification interne de leur courant, c'est-à-dire que la conductance des récepteurs pour les cations est supérieure à un potentiel négatif. Ainsi, ils rentrent plus facilement à l'intérieur de la cellule par ces récepteurs à un potentiel négatif qu'ils n'en sortent à un potentiel positif. Une diminution des récepteurs formés de la sous-unité GluR2 diminue l'entrée de courant calcique autre que ceux produits par les récepteurs NMDA et altère non seulement la transmission synaptique, mais aussi la plasticité de ces circuits neuronaux en général (Thiagarajan *et al.*, 2005).

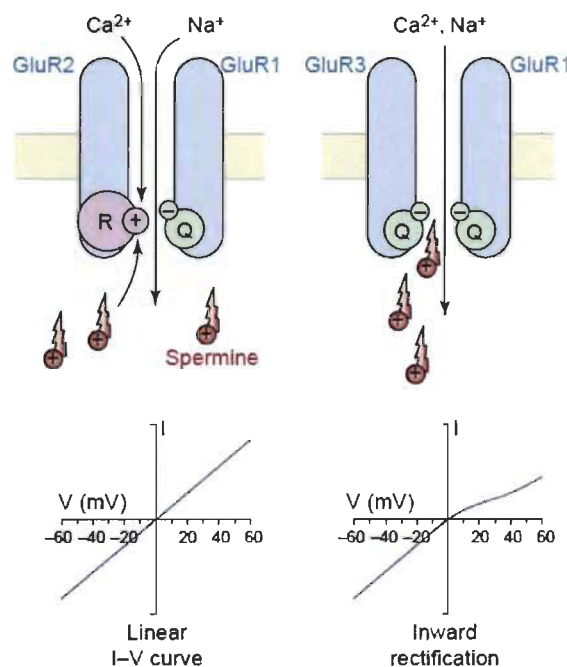


Figure 1.8 Impact de la composition des récepteurs AMPA

La présence de la sous-unité GluR2 sur les récepteurs AMPA les rend insensibles au blocage par des polyamines intracellulaires comme la spermine et leur confère une relation courant-voltage linéaire (Pellegrini-Giampietro, 2003).

La quantité de ces récepteurs à la synapse ainsi que les sous-unités qui les composent sont régulés au cours du développement en fonction de l'activité synaptique afférente (O'Brien *et al.*, 1998; Turrigiano et Nelson, 1998). Au cours du développement cortical normal, les récepteurs formés de la sous-unité GluR1 sont d'abord les plus abondants, puis sont remplacés progressivement par des récepteurs formés de la sous-unité GluR2 (Monyer *et al.*, 1991; Wisden et Seeburg, 1993; Herrmann, 1996). Des études *in vitro* ont démontré qu'une diminution chronique de l'activité d'un réseau neuronal entraîne une augmentation de l'activité synaptique dépendante des récepteurs AMPA (Turrigiano *et al.*, 1998; Desai *et al.*, 2002; Gainey *et al.*, 2009) alors qu'une augmentation soutenue de l'activité provoquait l'effet inverse (Turrigiano et al., 1998). En plus de modifier la quantité de récepteurs AMPA présents à la synapse, le niveau d'activité module la composition de ceux-ci. Par exemple, une augmentation de l'activité diminue la quantité de récepteurs contenant la sous-unité GluR1 présent à la synapse (Lissin et al., 1998) alors qu'une inhibition de la transmission synaptique augmente la quantité (Ju et al., 2004) ainsi que la demi-vie, donc le temps de rétention à la synapse, des récepteurs formés de la sous-unité GluR1 (O'Brien et al., 1998).

Les mêmes effets ont été constatés dans des modèles animaux suivant la perte d'activité visuelle. Par exemple, il a été observé que l'amplitude des courants postsynaptiques excitateurs (EPSCs) causés par les récepteurs AMPA était augmenté dans le cortex visuel de rats de quatre semaines élevés à l'obscurité depuis la naissance, et que cette augmentation était corrélée avec une augmentation de la quantité de récepteurs formés uniquement de la sous-unité GluR1 à la synapse (Goel *et al.*, 2006). L'effet inverse, soit une augmentation de l'amplitude des EPSCs et une diminution de l'expression de GluR1 présents à la synapse, a été observé chez ces mêmes animaux dans les cortex auditif et somatosensoriel. Par contre, la littérature montre certains résultats contradictoires. En effet, chez le chat élevé à l'obscurité depuis la naissance jusqu'à 12 semaines, aucune modulation de l'expression de la sous-unité GluR1 n'a été observée (Jaffer *et al.*, 2012a). De plus, cette étude a démontré que l'énucléation monoculaire chez le chat entraîne une augmentation de l'expression de GluR1 dans les

cortex visuels primaires contra et ipsilatéral après deux jours, mais que le niveau d'expression est rétabli après sept jours, suggérant un rôle de cette sous-unité dans respectivement la dépression de l'œil perdu et dans la potentiation de l'œil subsistant (Jaffer *et al.*, 2012a).

La majorité des études sur la modulation de l'expression de ces sous-unités lors de la perte d'activité ont été faites sur des cellules en culture (Turrigiano et Nelson, 1998; Desai *et al.*, 2002; Gainey *et al.*, 2009) et celles visant à déterminer le rôle de l'activité visuelle sur leur expression corticale *in vivo* ont été menées sur des périodes de temps relativement courtes, habituellement depuis la naissance jusqu'aux environs de la fermeture de la période critique de plasticité dans le cortex visuel (Goel *et al.*, 2006; Goel *et al.*, 2011). Toutefois, une étude chez le chat énucléé monoculairement depuis la naissance a démontré que l'expression des sous-unités GluR1 et GluR2 était modulée dans le cortex visuel au cours du développement, mais qu'à l'âge adulte, il n'y avait pas de différence du niveau d'expression de ces protéines dans le cortex visuel entre les chats ayant une vision normale et ceux privés de l'activité visuelle en provenant d'un des deux yeux (Beston *et al.*, 2010).

Pour cette étude, nous souhaitons évaluer l'effet d'une absence totale d'activité rétinienne depuis la naissance et jusqu'à un âge largement dépassé la fin de la période critique de plasticité sur la quantité des sous-unités GluR1 et GluR2 formant les récepteurs AMPA dans les différents cortex sensoriels primaires de la souris. Plus spécifiquement, nous voulions vérifier si l'expression de ces protéines dans les différents cortex serait modulée par l'absence totale et prolongée d'activité visuelle, tel qu'observé par Goel chez les rats élevés à l'obscurité pendant une période relativement courte (Goel *et al.*, 2006), ou si le niveau d'expression de ces sous-unités serait, à long terme, peu modulé par l'absence d'activité visuelle, comme le suggèrent les résultats obtenus chez le chat adulte énucléé monoculairement depuis la naissance (Beston *et al.*, 2010). De plus, nous souhaitons vérifier s'il y avait une différence de l'expression de ces sous-unités découlant de la prise en charge intermodale du cortex visuel chez la souris anophtalme. L'objectif de nos travaux était donc de vérifier si l'absence d'activité

visuelle entraînerait une modification de la composition des récepteurs AMPA de manière à faciliter la transmission synaptique dans le cortex visuel primaire et à la diminuer dans les autres cortex sensoriels, soit en augmentant dans le cortex visuel et en diminuant dans les autres cortex, l'expression relative de la sous-unité GluR1 par rapport à la sous-unité GluR2. Le cas échéant, nous voulions évaluer si la modulation de l'expression relative de ces protéines serait moins importante, voir nulle, chez les souris anophtalmes étant donné l'activation hétéromodale possible du cortex visuel chez ces souris.

1.5.2 Récepteurs NMDA

Les récepteurs NMDA sont perméables aux cations monovalents ainsi qu'au calcium. Ils sont responsables des courants excitateurs postsynaptiques plus lents (~190-380 ms) (Monyer *et al.*, 1992). Ce sont des hétérotétramères formés de deux sous-unités obligatoires NR1 et de deux sous-unités NR2A-D ou NR3A-B (Monyer *et al.*, 1992; Furukawa *et al.*, 2005). Parmi ces dernières, les sous-unités NR2A et NR2B sont celles dont l'expression est la plus importante au niveau du cortex cérébral (Monyer *et al.*, 1994). La majorité d'entre eux sont assemblés sous forme de di-hétéromères (NR1-NR2A ou NR1-NR2B), mais environ le tiers serait sous forme tri-hétéromérique (NR1-NR2A-NR2B) (Al-Hallaq *et al.*, 2007).

Les caractéristiques biophysiques des récepteurs NMDA comme leur conductance, leur probabilité d'ouverture et leur temps de désactivation dépendent de leur composition en sous-unités NR2 (Monyer *et al.*, 1992; Nakanishi *et al.*, 1994; Flint *et al.*, 1997; Cull-Candy et Leszkiewicz, 2004). Par exemple, dans les récepteurs qui contiennent la sous-unité NR2A, la cinétique des courants postsynaptiques excitateurs (PPSE) est plus rapide (Flint *et al.*, 1997). Ainsi, la durée des NMDA-PPSE est diminuée lorsque les récepteurs contiennent cette sous-unité (Carmignoto et Vicini, 1992). Ainsi, la transmission synaptique est favorisée lorsque les récepteurs NMDA sont formés de la sous-unité NR2B plutôt que la sous-unité NR2A puisque la cinétique plus lente des récepteurs formés de la sous-unité NR2B augmente la probabilité qu'il y ait

une sommation temporelle des PPSE pouvant mener au déclenchement d'un potentiel d'action au niveau post-synaptique (Gereau et Swanson, 2008).

Tout comme pour les récepteurs AMPA, il est déjà bien établi que la quantité, la localisation (Rao et Craig, 1997; Yashiro *et al.*, 2005) ainsi que la composition des sous-unités composants les récepteurs NMDA sont modulés au cours du développement en fonction du niveau d'activité neuronale (Bellone et Nicoll, 2007). Par exemple, les récepteurs formés de la sous-unité NR2B sont prédominants dans le cortex immature, mais l'expression de la sous-unité NR2A augmente progressivement au cours du développement (Sheng *et al.*, 1994; Flint *et al.*, 1997; Stocca et Vicini, 1998; Quinlan *et al.*, 1999) en fonction de l'expérience sensorielle, ce qui entraîne une augmentation du rapport NR2A/NR2B jusqu'à la fermeture de la période critique de plasticité (Nase *et al.*, 1999; Quinlan *et al.*, 1999). Cette augmentation développementale du rapport NR2A/NR2B a été constatée dans d'autres régions du cerveau (Lù *et al.*, 2001; Nordeen et Nordeen, 2004; Mao *et al.*, 2006) et chez plusieurs espèces animales, dont certaines phylogénétiquement très éloignées (Laurie *et al.*, 1997).

L'implication de ces récepteurs dans la plasticité synaptique a été démontrée depuis longtemps (Collingridge *et al.*, 1983) et abondamment étudiée au niveau de l'hippocampe ainsi que dans tous les cortex sensoriels (Lincoln *et al.*, 1988; Bear *et al.*, 1990; Schlagger *et al.*, 1993; Feldman *et al.*, 1996), principalement dans les mécanismes de PLT et de DLT (Yashiro et Philpot, 2008). Des études ont démontré leur implication dans les mécanismes de plasticité homéostatique, (Perez-Otano et Ehlers, 2005) dont la métaplasticité (Abraham et Bear, 1996). Par ailleurs, des études ont établi un lien entre la modulation développementale de la composition en sous-unité des récepteurs NMDA et la synaptogénèse (Tovar et Westbrook, 1999), la diminution de la plasticité synaptique (Sheng *et al.*, 1994) et la maturation de la sélectivité à l'orientation des neurones du cortex visuel (Fagiolini *et al.*, 2003).

Les études *in vivo* ont démontré que le blocage des récepteurs NMDA empêchait les modifications de la dominance oculaire induite lors de la perte de vision monoculaire

(Kleinschmidt *et al.*, 1987; Bear *et al.*, 1990; Roberts *et al.*, 1998; Daw *et al.*, 1999) et retardait la maturation de la sélectivité à l'orientation des neurones du cortex visuel primaire (Ramoia *et al.*, 2001), ce qui suggère que l'activation des récepteurs NMDA est nécessaire à l'établissement des circuits neuronaux dans le cortex visuel primaire. De plus, l'élevage à l'obscurité retarde l'augmentation du rapport NR2A/NR2B (Figure 1.9) (Nase *et al.*, 1999; Quinlan *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2000). Cette augmentation se produit en deux phases, d'abord une augmentation de l'expression de NR2B suivi d'une diminution de l'expression de NR2A (Chen et Bear, 2007).

L'expression de ces sous-unités est aussi affectée différemment selon l'âge auquel survient la perte de vision. Le rapport NR2A/NR2B est diminué dans le cortex visuel des souris élevées à l'obscurité de la deuxième journée suivant la naissance jusqu'aux environs de la fermeture de la période critique de plasticité, soit entre 21 et 27 jours. Cependant, seule la composition des récepteurs situés dans les régions pérисynaptiques et/ou extrasynaptiques semble modifiée chez des souris âgées de plus de 74 jours mises à l'obscurité pour une période de dix jours (Yashiro *et al.*, 2005), ce qui indique que différents mécanismes neuroplastiques peuvent influencer la modulation de l'expression de ces protéines selon l'âge et la durée de la perte d'afférences visuelles.

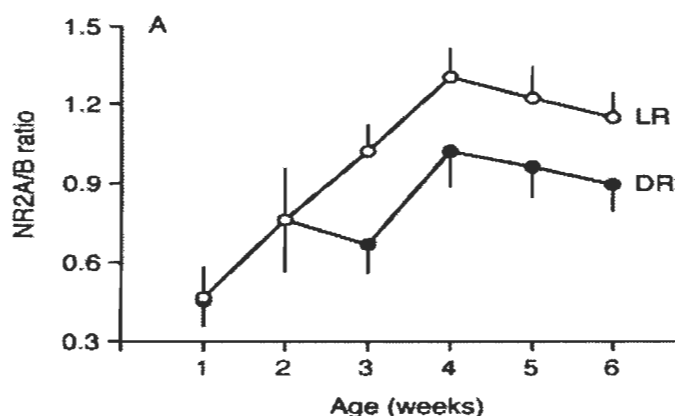


Figure 1.9 **Modification développementale du rapport NR2A/NR2B**
 Augmentation du rapport NR2A/NR2B au cours du développement dans le cortex visuel de rats élevés dans des conditions d'éclairage normal (LR) et diminution de ce rapport chez les rats élevés à l'obscurité (DR) (Quinlan *et al.*, 1999).

Bien que plusieurs études aient démontré une diminution du rapport NR2A/NR2B durant la période critique dans le cortex visuel d'animaux privés d'activité visuelle (Nase *et al.*, 1999; Quinlan *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2000; Chen et Bear, 2007), il existe peu d'études sur la modulation de l'expression des sous-unités NR2A et NR2B dans le cortex visuel lors de l'absence prolongée d'activité visuelle. Parmi celles-ci, une étude chez les chats de 5 semaines élevés à l'obscurité a démontré que l'expression de la sous-unité NR2A est diminuée comparativement aux chats élevés dans des conditions normales, mais que son expression était augmentée chez les chats de 20 semaines élevés à l'obscurité (Chen *et al.*, 2000), suggérant que l'absence d'activité visuelle n'empêcherait pas l'augmentation du rapport NR2A/NR2B, mais plutôt, qu'elle la retarderait. Une étude chez les souris élevées à l'obscurité depuis le troisième jour postnatal pendant une période de sept semaines a aussi démontré une diminution du ratio NR2A/NR2B (Chen et Bear, 2007).

Il a donc été proposé que l'augmentation du rapport NR2A/NR2B était retardée chez la souris tant qu'il n'y avait pas d'activité visuelle. Notre étude vise donc à confirmer cette hypothèse en vérifiant l'expression de chacune de ces sous-unités chez des souris complètement privées d'activité provenant de la rétine depuis la naissance jusqu'à un âge bien au-delà de la fermeture de la période critique de plasticité du cortex visuel. De plus, aucune étude jusqu'à maintenant n'avait permis de vérifier si l'expression des sous-unités NR2A et NR2B est modifiée dans les autres cortex sensoriels lorsque l'activité visuelle est absente pendant le développement, ni si la prise en charge intermodale du cortex visuel par les modalités sensorielles subsistantes avait un impact sur l'expression de ces sous-unités.

1.6 Autres protéines synaptiques

En plus de modifier l'expression des sous-unités des récepteurs synaptiques, l'activité visuelle influence aussi l'expression de plusieurs protéines qui interagissent directement avec ceux-ci ou qui sont impliquées dans différents mécanismes cellulaires de régulation de l'expression et de circulation de ces récepteurs à la synapse (Neve et Bear, 1989; Lodovichi *et al.*, 2000; Sans *et al.*, 2000; Cajigas *et al.*, 2010). La modulation du protéome synaptique suite à la perte d'afférences visuelles se fait tant au niveau pré- que postsynaptique et donc l'expression des principales protéines de part et d'autre de la synapse est changée (Ehlers, 2003; Mainardi *et al.*, 2010a). Pour notre étude, nous nous sommes spécifiquement intéressés à deux protéines particulièrement abondantes à la synapse, soit la synaptophysine et PSD95.

1.6.1 Synaptophysine

Le protéome présynaptique est composé de plus d'une centaine de protéines (Bayes et Grant, 2009) dont la synapsine et la synaptophysine, qui sont les deux protéines les plus couramment employées pour marquer les terminaisons présynaptiques (Micheva *et al.*, 2010). La synaptophysine est la protéine membranaire la plus abondante sur les vésicules synaptiques (Takamori *et al.*, 2006) et se retrouve principalement aux synapses glutamatergiques (Gronborg *et al.*, 2010; Micheva *et al.*, 2010).

La synaptophysine est une glycoprotéine associée à la membrane des vésicules présynaptiques (figure 1.10) qui appartient à la famille des synapsines (Wiedenmann et Franke, 1985; Thiel, 1993). Bien qu'elle soit connue depuis longtemps comme la principale protéine associée aux vésicules synaptiques (Jahn *et al.*, 1985), son rôle précis demeure obscur (Valtorta *et al.*, 2004) et ce n'est que récemment que des études ont démontré son rôle dans la régulation de l'endocytose des vésicules synaptiques (Kwon et Chapman, 2011). Par contre, son ubiquité dans les neurones en fait un marqueur souvent utilisé et depuis longtemps pour la quantification des synapses (Hoog *et al.*, 1988; Leclerc *et al.*, 1989; Mahata *et al.*, 1992; Calhoun *et al.*, 1996; Micheva *et al.*, 2010). De

plus, elle serait vraisemblablement impliquée dans certains mécanismes de plasticité synaptique. En effet, certaines études démontrent qu'elle agit conjointement avec la synaptogyrine pour favoriser la PLT et suggèrent qu'elle modulerait la transmission synaptique calcique et aurait ainsi un impact au niveau métaplastique (Janz *et al.*, 1999). Il a aussi été suggéré qu'elle affecterait la relâche de neurotransmetteur, mais son implication n'est pas clairement établie et est encore débattue (Alder *et al.*, 1995; Edelmann *et al.*, 1995; McMahon *et al.*, 1996).

Il existe peu d'études sur la modulation de l'expression de la synaptophysine lors de la perte d'activité visuelle. Une étude a toutefois démontré une diminution de l'expression de cette protéine dans le cortex visuel de chats âgés de quatre semaines après une semaine d'élevage à l'obscurité (Jaffer *et al.*, 2012a). Aucune théorie n'est disponible présentement dans la littérature pour expliquer ce phénomène. Bien que son rôle précis au niveau synaptique ne soit pas encore clairement établi et qu'elle puisse agir et vraisemblablement être modulée de différentes façons, une hypothèse envisageable est que, puisque la quantité de synaptophysine varie en fonction de la quantité de synapses (Calhoun *et al.*, 1996), cette diminution pourrait être attribuable à une diminution de la quantité de synapses dans le cortex visuel. Certains résultats dans la littérature suggèrent effectivement une modification de la quantité de synapses dans les différents cortex sensoriels lors de la perte d'afférences visuelles. En effet, des études ont démontré une diminution de la quantité d'épines dendritiques, donc de synapses potentielles, dans le cortex visuel de souris anophtalmes (Kaiserman-Abramof, 1979) ainsi qu'une augmentation de la densité d'épines dans le cortex auditif de rats ayant subi une énucléation binoculaire (Ryugo *et al.*, 1975).

Cette étude est donc la première à s'intéresser à la modulation de l'expression de cette protéine dans le cortex visuel ou dans les autres cortex sensoriels d'animaux privés d'activité rétinienne depuis la naissance et durant une longue période. Les résultats présentés dans la littérature jusqu'à présent semblent suggérer que la quantité de synapses dans les différents cortex pourrait être modifiée par la diminution de l'activité provenant de la rétine et que, conséquemment, le niveau d'expression de la

synaptophysine pourrait être diminué dans le cortex visuel et augmenté dans les cortex somatosensoriel et auditif des souris aveugles.

1.6.2 PSD95

La protéine PSD-95 fait partie de la famille des guanylates kinases associées à la membrane (MAGUK). C'est une protéine postsynaptique (Hunt *et al.*, 1996) d'échafaudage contenant 3 domaines PDZ, un domaine SH3 et un domaine guanylate kinase (figure 1.10) lui permettant d'interagir d'agir avec divers partenaires protéiques (Cho *et al.*, 1992; Stathakis *et al.*, 1997). Son ubiquité et son abondance au niveau de la densité postsynaptique en font une protéine couramment utilisée comme marqueur pour la quantification de synapse (Hunt *et al.*, 1996; Chakrabarti *et al.*, 2007; Latefi *et al.*, 2009; Calkins *et al.*, 2011).

La protéine PSD95 lie indirectement les récepteurs AMPA grâce à son interaction avec des protéines régulatrices des récepteurs AMPA transmembranaires (TARPs) (Tomita *et al.*, 2003; Tomita *et al.*, 2005) et directement la portion C-terminale des sous-unités NR2 des récepteurs NMDA (Kornau *et al.*, 1995a). Elle stabilise les récepteurs AMPA et NMDA à la membrane et est impliquée dans la maturation des synapses excitatrices (El-Husseini *et al.*, 2000; Keith et El-Husseini, 2008). De plus, certaines études suggèrent que l'interaction entre cette protéine et les récepteurs AMPA et NMDA pourrait aussi influencer la distribution de ces récepteurs à la surface (Townsend *et al.*, 2003; Lin *et al.*, 2004; Delint-Ramirez *et al.*, 2010) et leur fonction (Li *et al.*, 2003; Lin *et al.*, 2004; Schluter *et al.*, 2006). Par exemple, la liaison entre PSD95 et les récepteurs NMDA augmenterait leur probabilité d'ouverture (Lin *et al.*, 2004) et diminuerait leur vitesse de désensibilisation (Li *et al.*, 2003). La diminution de l'expression de cette protéine entraîne une réduction des transmissions synaptiques transitant par les récepteurs AMPA et augmente la durée des potentiels postsynaptiques excitateurs engendrés par les récepteurs NMDA en diminuant la quantité de récepteurs formés de la sous-unité NR2A (Beique *et al.*, 2006). Au contraire, une surexpression de cette protéine entraîne une augmentation de l'activité des récepteurs glutamatergiques

(El-Husseini *et al.*, 2000) et de la transmission synaptique transitant par les récepteurs AMPA (Beique *et al.*, 2006; Schluter *et al.*, 2006). Finalement, les souris chez lesquelles l'expression de PSD95 est altérée, la maturation de la dominance oculaire des neurones du cortex visuel s'effectue normalement, mais leur sélectivité à l'orientation demeure immature (Fagiolini *et al.*, 2003).

Chez les rongeurs, l'expression de PSD-95 au niveau synaptique est faible à la naissance, augmente lentement dans les premiers jours postnataux et rapidement lors de l'ouverture des yeux (Sans *et al.*, 2000; Yoshii *et al.*, 2003; Jaffer *et al.*, 2012a). La ressemblance entre les niveaux d'expression de PSD95 et de la sous-unité NR2A des récepteurs NMDA au cours du développement ainsi que les résultats d'immunoprécipitations suggèrent que PSD-95 pourrait se lier préférentiellement à la sous-unité NR2A (Sans *et al.*, 2000; Townsend *et al.*, 2003), bien que d'autres études suggèrent qu'elle lie les sous-unités NR2A et NR2B avec une affinité comparable (Al-Hallaq *et al.*, 2007). Aussi, il a été observé que l'activité visuelle augmentait le niveau d'expression de PSD95 dans le cortex visuel de jeunes rats, mais pas chez les rats adultes, ce qui suggère que la stabilisation de cette protéine à la synapse pourrait être importante pour la plasticité développementale dépendante de l'expérience sensorielle (Cotrufo *et al.*, 2003).

Ainsi, l'expression de PSD95 est modifiée au cours du développement cortical en fonction de l'expérience sensorielle. La modification de l'expression de PSD95 pourrait résulter d'un changement de la quantité des protéines avec lesquelles PSD95 interagit normalement, dont principalement la sous-unité NR2A des récepteurs NMDA, ou d'un changement de la quantité de synapses. En mesurant simultanément l'expression de PSD95 avec la synaptophysine, on peut distinguer si la modulation observée résulte d'un changement de la quantité de synapses, ce qui se traduirait par une augmentation ou une diminution corrélée de l'expression de ces deux protéines. Cette étude est la première à s'intéresser à la modulation de l'expression de PSD95 dans les différents cortex sensoriels d'animaux adultes aveugles depuis la naissance et à mesurer simultanément l'expression de PSD95 et d'un autre marqueur synaptique en plus de l'expression des

principales sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA. En accord avec les résultats attendus concernant l'expression de la sous-unité NR2A des récepteurs NMDA ainsi que les résultats attendus pour la synaptophysine, il semble probable que l'expression de PSD95 soit diminuée dans le cortex visuel et augmenté dans les autres cortex sensoriels de souris adultes aveugles depuis la naissance.

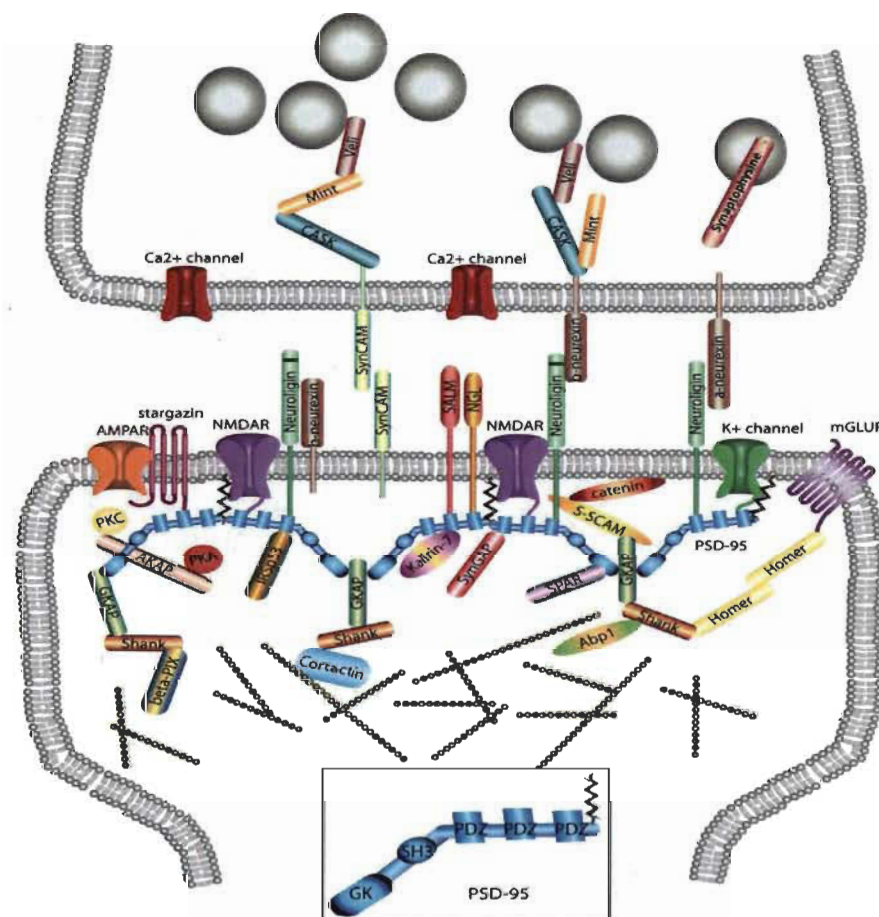


Figure 1.10 Localisation synaptique des protéines synaptophysine et PSD95

Localisation synaptique des protéines synaptophysine et PSD95. La synaptophysine (rouge carmin) est localisée au niveau présynaptique sur la membrane des vésicules synaptiques. La protéine PSD95 (bleu) est une protéine d'échafaudage abondante au niveau post-synaptique. Elle peut interagir avec plusieurs partenaires protéiques grâce à ses trois domaines PDZ, son domaine SH3 et son domaine guanylate kinase (voir encadré). Elle lie directement les récepteurs NMDA et indirectement, par son interaction avec des TARPs comme la stargazine, les récepteurs AMPA. Modifié de Keith et El-Husseini (2008).

1.7 Objectifs spécifiques et hypothèses

L'étude de la modulation à long terme des sous-unités GluR1 et GluR2 des récepteurs AMPA, des sous-unités NR2A et NR2B des récepteurs NMDA ainsi que les protéines pré- et postsynaptiques synaptophysine et PSD-95, dans les différents cortex sensoriels primaires suite à une perte précoce de vision est l'objet principal de ce mémoire. Certaines études ont montré des modifications biochimiques des récepteurs glutamatergiques et d'autres protéines synaptiques, principalement dans le cortex visuel, suite à la perte de l'activité visuelle à certains stades développementaux (Philpot *et al.*, 2001; Yashiro *et al.*, 2005; Goel *et al.*, 2006; Gao *et al.*, 2010b; Jaffer *et al.*, 2012b), mais aucune n'a, jusqu'à présent, étudié simultanément la modulation de l'expression des sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA dans trois différents cortex sensoriels chez des animaux adultes aveugles depuis la naissance. De plus, toutes les études menées jusqu'à présent ont utilisé des paradigmes de privation visuelle partielle comme l'énucléation monoculaire, ou alors des paradigmes de privation visuelle totale, mais avec des modèles animaux chez lesquels de l'activité rétinienne, quoiqu'altérée, était toujours présente comme l'élevage à l'obscurité. Ainsi, bien que ces recherches aient démontré différentes modifications qui surviennent dans un délai plus ou moins long suivant une privation visuelle, les conséquences neurobiochimiques de la perte totale, irréversible et prolongée d'activité provenant de la rétine sur la biochimie corticale chez l'adulte sont totalement inconnues. Aussi, nos modèles animaux nous permettent d'étudier spécifiquement les conséquences intermodales de la privation visuelle. Ainsi, notre étude se distingue de toutes les études présentées jusqu'à ce jour.

Nous avons vu qu'il existe deux types de mécanismes susceptibles d'entraîner des modifications de l'expression des récepteurs glutamatergiques et des protéines synaptiques, soit les mécanismes Hebbiens, qui interviennent rapidement au niveau des synapses individuelles et qui sont particulièrement importants pour la stabilisation des connexions dans les cortex durant la période critique, et les mécanismes homéostatiques qui surviennent lors d'une modification prolongée de l'activité synaptique et qui permettent de rétablir l'activité globale du réseau neuronal à un certain niveau. Les

mécanismes homéostatiques de plasticité devraient donc être particulièrement importants lors d'une perte totale et prolongée d'activité visuelle comme celle induite par l'énucléation bilatérale et chez les souris anophtalmes. D'une manière générale, on s'attend donc à ce que l'absence d'activité visuelle chez les souris adultes aveugles depuis la naissance diminue le niveau d'activité dans le cortex visuel primaire et que les mécanismes de plasticité homéostatique entraînent alors une modification de l'expression des sous-unités des récepteurs glutamatergiques favorisant la transmission synaptique. Au contraire, puisque les animaux aveugles doivent utiliser davantage leur sens subsistant pour compenser la perte de vision, on s'attend à ce que l'augmentation de l'activité sensorielle dans les cortex auditif et somatosensoriel entraîne une modulation de l'expression des sous-unités des récepteurs glutamatergiques en favorisant l'expression de celles qui diminuent l'efficacité de la transmission synaptique.

Ainsi, les mécanismes de plasticité homéostatiques devraient entraîner une augmentation de la quantité de récepteurs AMPA formés de la sous-unité GluR1 dans le cortex visuel primaire des souris énucléées, ce qui se traduirait par une augmentation de l'expression de la sous-unité GluR1 et/ou une diminution de l'expression de la sous-unité GluR2. Cette modulation pourrait aussi être moins importante dans le cortex visuel primaire des souris anophtalmes étant donné la prise en charge de ce cortex par les modalités sensorielles subsistantes, qui rétablirait au moins en partie le niveau d'activité. Par ailleurs, on pourrait s'attendre à une modulation inverse dans les cortex sensoriels des modalités intactes puisqu'ils sont plus sollicités. On s'attend donc à une diminution de l'expression de la sous-unité GluR1 et/ou une augmentation de l'expression de la sous-unité GluR2 dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires des souris aveugles. Cette hypothèse serait cohérente avec les résultats obtenus suite à une brève période de privation visuelle chez le rat (Goel *et al.*, 2006).

Il est déjà bien établi que la composition en sous-unités NR2A et NR2B des récepteurs NMDA est modulée de sorte qu'elle passe d'une forte prédominance de la sous-unité NR2B au stade néonatal à une prédominance de la sous-unité NR2A à l'âge adulte (Sheng *et al.*, 1994; Flint *et al.*, 1997; Quinlan *et al.*, 1999). Ce renversement

développemental est dépendant de l'expérience sensorielle ou plus spécifiquement de l'activité neuronale (Sheng *et al.*, 1994; Bellone et Nicoll, 2007; Sanz-Clemente *et al.*, 2012). Si l'expérience sensorielle est nécessaire à l'augmentation du rapport NR2A/NR2B, on pourrait s'attendre à ce que le renversement du rapport NR2A/NR2B dans le cortex visuel primaire, coïncidant normalement avec la fermeture de la période critique de plasticité (Berardi *et al.*, 2003), ne se produise pas tant qu'aucune activité visuelle ne parvient au cortex. On retrouverait alors une expression plus importante de la sous-unité NR2B et moins importante de la sous-unité NR2A dans le cortex visuel des souris aveugles par rapport à l'expression mesurée dans le cortex visuel des souris voyantes. Par ailleurs, si l'augmentation de ce rapport dépend de l'expérience sensorielle, le recrutement du cortex visuel primaire pour le traitement d'informations non visuelles pourrait permettre un renversement développemental normal du rapport NR2A/NR2B chez les souris anophtalmes. Au niveau des cortex auditif et somatosensoriel, nous nous attendions à ce que l'augmentation développementale du ratio NR2A/NR2B s'effectue normalement puisque l'activité auditive et somatosensorielle sont toujours présentes et qu'une augmentation de ce ratio, conséquente aux mécanismes homéostatiques de plasticité, puisse être détectée à l'âge adulte étant donnée l'utilisation accrue des modalités sensorielles auditive et somatosensorielle chez les souris aveugles.

Puisqu'il n'existe que très peu d'étude sur la modulation de l'expression de la synaptophysine dans les différents cortex sensoriels d'animaux privés d'activité sensorielle et aucune sur des animaux privés d'activité visuelle durant une longue période, il est difficile de formuler une hypothèse à ce sujet. Toutefois, les études sur la quantité et la densité d'épines dendritiques dans les cortex visuel (Kaiserman-Abramof, 1979) et auditif (Ryugo *et al.*, 1975) d'animaux privés visuellement ainsi que l'étude démontrant une diminution de l'expression de la synaptophysine dans le cortex visuel de chats élevés à l'obscurité durant une courte période suggèrent que son expression pourrait être diminuée dans le cortex visuel de souris aveugles et augmentée dans les cortex auditif et somatosensoriel de ces souris.

Finalement, étant donné sa liaison préférentielle avec la sous-unité NR2A des récepteurs NMDA, on peut s'attendre à ce que la modulation de la protéine PSD-95 soit similaire à celle attendue pour NR2A, c'est-à-dire une diminution de l'expression de celle-ci dans le cortex visuel primaire des souris énucléées, une modulation inverse dans les cortex sensoriels associés aux modalités sensorielles subsistantes et des changements moins importants, voire aucune modification, chez les souris anophtalmes. Cette diminution de l'expression de PSD-95 dans le cortex visuel de souris aveugles serait conséquence avec les résultats obtenus suite à une période d'élevage à l'obscurité de rats adultes (Cotrufo *et al.*, 2003). Par ailleurs, puisque PSD95 peut aussi servir de marqueur synaptique, la modulation attendue de l'expression de cette protéine pourrait être similaire à celle attendue pour la synaptophysine. En effet, si la quantité de synapses dans l'un des cortex était modifiée, on devrait s'attendre à une augmentation ou une diminution corrélée de l'expression de ces deux protéines.

Le tableau 1.1 ci-dessous résume les hypothèses de recherche présentées dans cette section. Il est à noter qu'afin d'alléger le tableau, les hypothèses ont été indiquées dans le tableau en terme de rapport d'expression pour les sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA, et que les hypothèses concernant les souris anophtalmes n'ont pas été mentionnées spécifiquement puisqu'on s'attendait à observer, chez ces souris, soit une modulation de l'expression de ces protéines semblable mais moins prononcée que celle attendue chez les souris énucléées, ou alors aucune modulation significative.

Tableau 1.1
Résumé des hypothèses

Protéine	Modulation attendue chez l'aveugle			Principales références
	<i>VI</i>	<i>AI</i>	<i>SI</i>	
Ratio GluR1/GluR2	augmentation	diminution	diminution	Goel <i>et al.</i> 2006
Ratio NR2A/NR2B	diminution	augmentation	augmentation	Quinlan <i>et al.</i> 1999 Chen et Bear 2007 Abraham et Bear 1996
Synaptophysine	diminution	augmentation	augmentation	Kaiserman- Abramof 1970 Ryugo <i>et al.</i> 1975
PSD95	diminution	augmentation	augmentation	Cotrufo <i>et al.</i> 2003

CHAPITRE II

MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Modèles animaux

Dans toute étude *in vivo*, le choix du modèle animal est crucial. Le principe de Krogh suggère qu'il existe un animal idéal chez lequel étudier toute problématique (Krogh, 1929). Le chat et les primates ont longtemps été les espèces de prédilection pour l'étude du système visuel et du développement cortical. Le choix de ces modèles animaux est justifié par les nombreuses ressemblances de leur système visuel avec celui des humains. En effet, ces animaux ont un système visuel bien développé, de grands yeux, une bonne acuité visuelle et leurs voies visuelles centrales partagent beaucoup de caractéristiques communes avec celles de l'homme, notamment la présence de colonnes sélectives à l'orientation et de dominance oculaire dans le cortex visuel (Hubel et Wiesel, 1963; Hubel et Wiesel, 1969; Nassi et Callaway, 2009). De plus, à l'instar de l'humain, les primates sont des animaux diurnes. Toutefois, ces modèles présentent aussi certains désavantages comme leur coût élevé et la nécessité de disposer d'installations particulières adaptées. Aussi, ces espèces sont plus difficiles à manipuler, ont une moindre fertilité et un développement plus lent que celui des rongeurs, c'est pourquoi ces derniers, et particulièrement la souris, sont de plus en plus utilisés. La disponibilité de nombreuses souches consanguines stables de souris permet de disposer de groupes expérimentaux génétiquement homogènes. De plus, l'excellente connaissance de son génome et la facilité avec laquelle on peut le modifier ont fait en sorte qu'aujourd'hui, plusieurs études *in vivo* utilisent ce modèle animal.

Ces avantages pratiques et économiques ne justifient pas à eux seuls le choix de cette espèce comme modèle pour étudier le rôle de l'activité dans le développement cortical. Pendant longtemps, peu d'études ont été faites sur le système visuel de la souris, car on ne la considérait pas comme un animal visuel, principalement à cause de

son mode de vie nocturne et de sa faible acuité visuelle (Prusky et Douglas, 2004). Or, on sait maintenant que le système visuel de la souris est beaucoup plus sophistiqué qu'on le croyait initialement et que son cortex visuel possède plusieurs caractéristiques communes avec celui des humains ainsi que celui des singes et des chats (Antonini *et al.*, 1999; Niell et Stryker, 2008; Huberman et Niell, 2011). En effet, en plus de présenter une organisation laminaire en 6 couches typiques, les neurones composant le cortex visuel primaire de la souris présentent plusieurs des caractéristiques électrophysiologiques associées au traitement de l'information visuelle dont la sélectivité à l'orientation, à la direction et à certaines fréquences spatiales (Drager, 1975; Niell et Stryker, 2008; Gao *et al.*, 2010a; Huberman et Niell, 2011). Ces données montrent que le cortex visuel primaire de la souris exécute des opérations comparables à celui des autres mammifères comme le singe et le chat, mais simplement avec une résolution spatiale moindre (Niell et Stryker, 2008). De plus, la similitude entre le protéome postsynaptique de la souris et l'humain (Bayes *et al.*, 2012) ainsi que la facilité avec laquelle on peut modifier le génome de la souris afin d'inhiber ou de surexprimer une protéine dont l'expression serait modulée en font un modèle particulièrement intéressant pour la recherche des modifications moléculaires fondamentales dans les différents cortex sensoriels lors de la perte de vision.

La souris semble donc un modèle approprié pour l'étude du développement cortical en absence de vision. Toutefois, le choix de la souche est crucial puisque leurs capacités visuelles peuvent être très différentes (Balkema et Drager, 1991; Adams *et al.*, 2002; Wong et Brown, 2006). Par exemple, plusieurs souches de souris albinos et hypopigmentées couramment utilisées pour la recherche comme les souris de souche AKR/J et les BALB/cJ ont une mauvaise vision (Balkema et Drager, 1991; Adams *et al.*, 2002) alors que d'autres souches comme la DBA/2J deviennent progressivement aveugles à l'âge adulte (Chang *et al.*, 1999; Li *et al.*, 2001; Ambati *et al.*, 2003; Schuettauf *et al.*, 2004).

Pour ces travaux, deux souches différentes de souris ont été utilisées, soit les souris C57BL/6J possédant un système visuel normalement développé et les souris

anophtalmes congénitales ZRDCT/An, un modèle intéressant pour l'étude du développement cortical en absence de rétine (Figure 2.1A et 2.1B). Occasionnellement, les souris de la souche C57BL/6J naissent avec un phénotype anophtalmique (Chase, 1942; Pierro et Spiggle, 1967; Robinson *et al.*, 1993; Smith *et al.*, 1994) possiblement issu d'une ancestralité commune avec la souche ZRDCT (Chase, 1944; Beck *et al.*, 2000). En plus de les utiliser comme contrôle voyant, nous avons aussi utilisé des souris de la souche C57BL/6J dont nous avons retiré chirurgicalement les yeux au premier jour suivant la naissance (P1) (Figure 2.1C).

La comparaison entre nos deux modèles de privation visuelle, l'anophtalmie congénitale et l'énucléation à la naissance, permet d'étudier le rôle de l'activité provenant de la rétine embryonnaire sur le développement et la spécification des aires corticales ainsi que les mécanismes de plasticité intermodale. La différence entre ces deux types de cécité précoce repose essentiellement sur le fait que le cortex des souris C57BL/6J reçoit des vagues d'activité corrélée en provenance de la rétine durant la période prénatale alors que ce n'est pas le cas chez la souris anophtalme puisque chez cette souris, la rétine ne se développe jamais. Chez la souris, les fibres de la voie rétinothalamique atteignent le corps genouillé vers le 14^e jour embryonnaire (E14) (Auladell *et al.*, 2000; Del Rio *et al.*, 2000). Les fibres thalamocorticales arrivent ensuite dans la sous plaque corticale dès E15 (Del Rio *et al.*, 2000; Lopez-Bendito et Molnar, 2003) et interagissent avec les précurseurs des neurones qui formeront le cortex visuel. Ces fibres atteignent finalement le cortex visuel au niveau de la couche IV environ à P2 (Clancy *et al.*, 2001). Chez le rat, les vagues d'activité spontanée sont présentes dès le 17^e jour suivant la conception (Galli et Maffei, 1988), ce qui correspond environ à E15 chez la souris (Clancy *et al.*, 2001). Chez les souris énucléées, des vagues d'activité corrélée en provenance de la rétine peuvent donc influencer le développement cortical jusqu'au jour de la naissance alors que cette activité n'est pas présente chez les souris anophtalmes congénitales de souche ZRDCT/An.

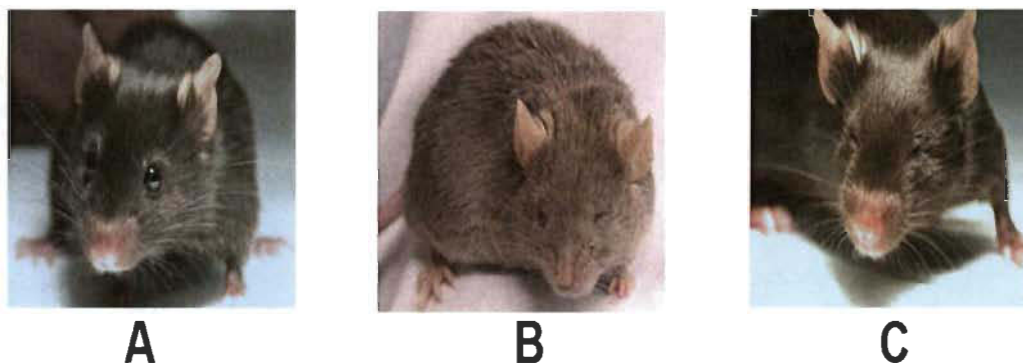


Figure 2.1 Modèles de souris utilisées.

Trois modèles de souris ont été utilisés. (A) La souris C57BL/6J, (B) la souche de souris ZRDCT/An anophtalme et (C) la souris C57BL/6J énucléée bilatéralement à la naissance.

2.1.1 Souris C57BL/6J

La souche de souris C57BL a été créée en 1921 par le fondateur de la compagnie The Jackson Laboratory et la sous-souche 6J est la plus communément utilisée en laboratoire et l'une des mieux connues (Bryant, 2011). Son utilisation très répandue, la bonne connaissance de son phénotype, sa stabilité génétique bien établie grâce aux multiples générations de rétrocroisement et sa bonne capacité de reproduction ont fait en sorte que c'est cette souche qui a été choisie par la communauté scientifique pour être la première dont le génome serait séquencé (Battey *et al.*, 1999; Waterston *et al.*, 2002). Il s'agit d'une souris pigmentée ayant une vision normale (Wong et Brown, 2006).

2.1.2 Souris C57BL/6J énucléées à la naissance

Chez les souris énucléées, les globes oculaires sont retirés et le nerf optique est sectionné dans les 24 heures suivant la naissance. Pour ce faire, les souriceaux sont d'abord anesthésiés par hypothermie en les plongeant pendant une minute dans un bain de glace, puis une incision est pratiquée au niveau de la fente palpébrale afin de révéler le globe oculaire. On applique ensuite une légère pression de part et d'autre de l'œil à l'aide d'une paire de pinces recourbée jusqu'à ce que le globe oculaire soit expulsé de l'orbite, puis on ferme les pinces de manière à saisir fermement le nerf optique et on retire l'œil. On remplit finalement la cavité avec un agent hémostatique résorbable fait

de gélatine (Gelfoam, Upjohn) afin de prévenir l'hémorragie. L'énucléation bilatérale néonatale entraîne la régression des nerfs, du chiasma et des tractus optiques puis la dégénérescence des voies visuelles rétiniennes. Ainsi, jusqu'à leur naissance, le thalamus visuel de ces souris est innervé par les afférences rétino-fuges et la maturation des neuroblastes de la sous-plaque corticale est influencée par l'activité spontanée en provenance de la rétine embryonnaire, mais les fibres provenant du corps genouillé latéral du thalamus n'atteignent jamais la couche IV du cortex visuel primaire. Le développement des voies visuelles est donc normal pendant la période embryonnaire, mais aucune expérience visuelle ne vient influencer le développement cortical durant la période postnatale.

2.1.3 Souris ZRDCT/An

Décrites pour la première fois au début des années quarante (Chase et Chase, 1941), les souris de la souche ZRDCT/An sont un modèle murin d'anophtalmie congénitale. Chez ces souris, ni les yeux, ni le nerf optique ne se forment alors que les paupières, la conjonctive palpébrale, les tissus périoculaires et les glandes lacrymales de la membrane nictitante demeurent intacts (Chase et Chase, 1941; Silver et Hughes, 1974).

La mutation responsable de ce phénotype est localisée au niveau d'un site d'initiation alternatif du gène *Rx* situé sur le chromosome 18. Ce gène, qui contient deux boîtes homéotiques, code pour l'homéoprotéine *Rx/rax*, un facteur de transcription essentiel pour la formation des vésicules optiques. La mutation provoque une substitution conservatrice du résidu méthionine en position 10 pour un résidu leucine (M10L), ce qui a pour effet de diminuer l'expression de la protéine *Rx* en empêchant l'expression de l'isoforme courte de celle-ci (Tucker *et al.*, 2001). La réduction de l'expression de cette protéine engendre des individus viables souffrant d'anophtalmie congénitale alors que son absence complète entraîne, en plus, des déficiences majeures du système nerveux central menant à la mort néonatale (Mathers *et al.*, 1997). Les souris de la souche ZRDCT/An sont homozygotes pour cette mutation, mais sa pénétrance est

incomplète. Le coefficient de pénétrance est d'environ 90 %, les 10 % d'individus restants étant généralement microphthalmes ou monophthalmes (Silver *et al.*, 1984). Chez l'humain, des mutations au niveau du gène *Rx* peuvent aussi causer l'anophtalmie (Voronina *et al.*, 2004; Verma et Fitzpatrick, 2007; Lequeux *et al.*, 2008).

La souris ZRDCT/An est un modèle intéressant pour l'étude du développement du système nerveux en l'absence d'activité rétinienne depuis le développement embryonnaire. Chez les souris anophtalmes, contrairement aux souris énucléées à la naissance, le noyau genouillé latéral ne reçoit pas d'innervation rétinienne durant la période embryonnaire. Conséquemment, son développement n'est pas influencé par l'activité spontanée précoce ou par des facteurs trophiques en provenance de la rétine. De plus, comme mentionnée dans la section 1.4.3, une autre distinction importante entre les souris énucléées à la naissance et les souris anophtalmes est que le cortex visuel primaire de ces dernières est directement activé par des stimulations auditives (Piché *et al.*, 2004). Ainsi, la souche ZRDCT/An nous permet d'étudier plus spécifiquement les mécanismes de plasticité intermodale suite à la perte de la vision.

2.1.4 Conditions d'élevage

Pour cette étude, nous avons utilisé des souris adultes âgées entre 58 et 61 jours. Les animaux ont été élevés dans un milieu enrichi, c'est-à-dire un milieu contenant plusieurs accessoires (roue, tuyaux, litière plus abondante) où la nourriture était placée dans la cage de manière aléatoire et où ils pouvaient interagir avec d'autres souris. Plusieurs études ont démontré qu'un environnement enrichi favorise la plasticité (Diamond, 2001; Mohammed *et al.*, 2002; Mainardi *et al.*, 2010b; Zhu *et al.*, 2011; Bengoetxea *et al.*, 2012; Tognini *et al.*, 2012; Fares *et al.*, 2013). De plus, une étude chez les souris ZRDCT/An a démontré que l'activation du cortex occipital par des stimulations auditives était amplifiée chez les souris élevées dans un milieu enrichi (Piché *et al.*, 2004).

Les animaux ont été hébergés dans les installations de l'université et maintenus dans un environnement calme avec un cycle de lumière/obscurité de 14/10heures. Toutes les procédures expérimentales ont été approuvées par le Comité de bons soins aux Animaux de l'UQTR et ont été effectuées conformément aux directives du Conseil canadien de protection des animaux.

2.2 Extraction des cortex

Pour l'extraction des différentes régions corticales, les souris ont d'abord été profondément anesthésiées dans une cage à induction contenant de l'isoflurane (Baxter corporation, Mississauga), puis décapitées. Les cerveaux ont été récoltés et déposés dans une matrice en acrylique permettant de couper des tranches coronales de 1 mm (Alto, World Precision Instrument, Sarasota, USA; Figure 2.2). Les différents cortex ont ensuite été localisés en comparant, sous la loupe binoculaire, la morphologie du cerveau sur ces tranches aux images d'un atlas (Franklin et Paxinos, 2008), puis découpés à l'aide d'un scalpel. Toutes les manipulations ont été effectuées sur la glace et dans un tampon d'extraction (4 mM HEPES pH 7,4; 0,32M sucrose) contenant des inhibiteurs de phosphatase (1 mM Na_3VO_4 , 5mM NaF) et de protéase (Halt protease inhibitor cocktail, Thermo Pierce). Les fragments de cortex ont finalement été congelés à $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ jusqu'à leur utilisation. L'ensemble de la procédure, de l'induction initiale de l'anesthésie à l'extraction des cortex, a été effectué en moins de vingt minutes. La rapidité d'exécution ainsi que l'utilisation d'inhibiteurs de protéases et de glace ont permis de limiter la protéolyse.



Figure 2.2 Matrice d'acrylique.

La face dorsale du cerveau est d'abord déposée sur la matrice, puis des lames de rasoir sont placées à chaque extrémité pour s'assurer que le cerveau reste bien immobile pendant qu'il est coupé. Le cerveau est découpé en tranches en insérant une lame de rasoir dans les stries de la matrice qui sont espacées de 1 mm, ce qui permet d'obtenir, de manière reproductible, des tranches coronales de 1 mm d'épaisseur.

En plus des cortex visuel, auditif et somatosensoriels primaires, le cortex frontal a aussi été extrait pour servir de contrôle afin de nous assurer que la modulation de l'expression des protéines étudiées était effectivement attribuable à la perte d'activité visuelle et non à une réponse générale au stress ou une différence générale de l'expression des protéines étudiées entre les différentes souches de souris.

2.3 Extraction des protéines

Pour l'analyse par immunobuvardage de type Western, les protéines provenant des cortex ont d'abord été extraites des tissus corticaux par trituration dans un tampon de lyse (Tris-HCl 20mM pH 7,4, 150 mM NaCl, 1 % Triton X-100) contenant des inhibiteurs de phosphatases, (1 mM Na_3VO_4 , 5mM NaF) et de protéases (Halt protease inhibitor cocktail, Thermo Pierce). Cet homogénat a ensuite été soniqué deux fois pendant une minute, puis centrifugé 10 minutes à 1000 x g à 4°C. Le surnageant postnucléaire (PNS) ainsi obtenu est débarrassé des noyaux et des tissus conjonctif et

vasculaire. La concentration protéique de cette fraction biochimique a ensuite été évaluée par une méthode de dosage colorimétrique à l'acide bicinchonique (BCA protein assay kit, Thermo Scientific Pierce) en utilisant l'albumine sérique bovine comme protéine étalon. Une quantité fixe de protéines a finalement été préparée dans un tampon Laemmli 4X (Tris-HCl 62,5 mM, 25 % glycérol, 2 % SDS, 0,1M DTT, bleu de bromophénol). Les protéines ont finalement été plongées dans un bain d'eau bouillante pendant 5 minutes pour s'assurer d'une dénaturation complète, puis chargées sur un gel pour être séparées par migration électrophorétique.

2.4 Immunobuvardage de type Western

Les protéines contenues dans la fraction PNS ont été résolues en fonction de leur poids moléculaire par électrophorèse en condition dénaturante sur un gel de polyacrylamide 8 % (SDS-PAGE), puis transférées sur une membrane de polyfluorure de vinidylène (PVDF) par buvardage électrophorétique en appliquant un voltage constant de 60V pendant 2 heures. Les membranes ont par la suite été incubées à 4°C pendant 2 heures dans une solution de blocage (PBS 0,01M, 0,05 % Tween-20) contenant 5 % de sérum d'âne (NDS) ou d'albumine sérique bovine (BSA) selon l'anticorps utilisé, puis les protéines ont été détectées par immunodétection indirecte. La révélation a été faite par chimiluminescence avec un anticorps secondaire lié à une molécule de peroxydase de raifort (HRP).

Les anticorps primaires et secondaires ont été préparés dans une solution de blocage des sites non-spécifiques (PBS 0,01M, 0,05 % Tween-20) contenant 1 % de NDS ou de BSA selon l'anticorps et les concentrations ont été optimisées pour chacun de ceux-ci (Tableau 2.1). Les anticorps ont été soigneusement choisis pour éviter la détection croisée des protéines homologues de poids moléculaire semblable (GluR1 et GluR2 ainsi que NR2A et NR2B). D'abord, les séquences des protéines ont été comparées (Basic Local Alignment Sequence Tool, NCBI) afin de choisir des anticorps dirigés contre des épitopes suffisamment distincts. De plus, les anticorps choisis provenaient d'espèces

différentes et les anticorps secondaires utilisés ont aussi été testés afin de s'assurer qu'ils ne réagissent pas avec des anticorps provenant d'une autre espèce.

Pour assurer une meilleure reproductibilité et une plus grande précision, plusieurs précautions ont été prises. D'abord, bien que la quantité de protéines dans chaque échantillon ait été dosée afin de charger une quantité constante 4 μ g de protéine dans chacun des puits, les valeurs ont été normalisées en utilisant la protéine α -tubuline comme standard interne (Ma *et al.*, 2012) afin de limiter la variabilité attribuable à un chargement inégal de protéines. Aussi, toutes les expériences ont été répétées cinq ($n = 5$) fois, c'est-à-dire que les cortex de cinq animaux différents pour chacune des conditions (souris contrôles, énucléées et anophtalmes) ont été utilisés, excepté pour la synaptophysine qui a été répétée quatre fois ($N = 4$). De plus, puisque certaines études ont démontré que la position de l'échantillon dans le gel peut influencer de manière importante le résultat obtenu lors de l'analyse semi-quantitative par immunobuvardage Western (Aldridge *et al.*, 2008), chacun de ces répliquas a été refait trois à neuf fois selon le cas dans les mêmes conditions en faisant varier aléatoirement la position de chargement des échantillons de protéines sur le gel. Finalement, en plus d'être mesurée dans les différents cortex sensoriels, l'expression de ces protéines a aussi été mesurée dans le cortex frontal à titre de contrôle interne. En effet, le cortex frontal est principalement impliqué dans les tâches motrices et de cognition (Watson C. *et al.*, 2011) et ne devrait donc pas être affecté par la perte de vision. Ainsi, nous avons mesuré l'expression des protéines dans ce cortex afin de s'assurer que les différences observées ne sont pas occasionnées par d'autres facteurs comme le stress ou la souche de souris utilisée. Le cortex frontal est souvent utilisé comme contrôle pour ce type d'expérience (Yashiro *et al.*, 2005; Jo *et al.*, 2006; Chen et Bear, 2007).

Afin de pouvoir détecter toutes les protéines sur une même membrane et de diminuer la variabilité entre les reproductions d'une même expérience attribuable, par exemple, à un transfert inégal des protéines du gel sur la membrane de PVDF, une technique consistant à inhiber irréversiblement le signal de la HRP couplée à l'anticorps secondaire grâce au peroxyde a été utilisée (Sennepin *et al.*, 2009). Cette technique offre

plusieurs avantages par rapport à la technique communément employée, le stripage, qui consiste à enlever les anticorps liés sur la membrane grâce à une solution contenant différents détergents. En plus d'être plus rapide et moins coûteuse, la technique que nous avons employée nous assure qu'aucune protéine n'est décrochée de la membrane, ce qui est préférable lorsque l'on veut établir des rapports entre l'expression relative de deux protéines comme le rapport NR2A/NR2B. La technique consiste à incuber les membranes dans une solution de peroxyde 30 % à 37°C pendant 30 minutes (Sennepin *et al.*, 2009). Les membranes sont ensuite rincées dans une solution de PBS. Elles sont alors prêtes à être réutilisées pour une autre révélation.

Des vérifications ont été faites pour s'assurer qu'il ne demeurerait aucun signal de chimiluminescence résiduel sur la membrane suite à l'incubation avec le peroxyde et que cette technique ne diminuait pas l'intensité du signal pour les révélations subséquentes. Notez qu'il est primordial, lorsque l'on utilise cette technique, que l'anticorps secondaire utilisé pour la seconde révélation ne soit pas dirigé contre l'une des espèces chez lesquelles ont été produits les anticorps primaires et secondaires de la première révélation afin d'éviter de générer un signal non spécifique.

Tableau 2.1
Caractéristiques des anticorps utilisés

Protéine	Poids moléculaire (kDa)	Fournisseur	No. Produit	Espèce hôte	Dilution
GluR1	106	Santa Cruz	SC-13152	Souris	1/500
GluR2	100	Santa Cruz	SC-7610	Chèvre	1/500
NR2A	170	Millipore	05-901R	Lapin	1/2500
NR2B	178	Santa Cruz	SC-1469	Chèvre	1/1000
Synaptophysine	38	Abcam	Ab14692	Lapin	1/25000
PSD-95	80	Abcam	Ab18258	Lapin	1/1000
α-tubuline	50	Abcam	Ab7291	Souris	1/20000

2.5 Analyse

La révélation a été faite par chimiluminescence en appliquant d'abord sur les membranes une solution de luminol et de peroxyde (SuperSignal West Femto Maximum Sensitivity Substrate, Thermo Scientific). Les bandes chemiluminescentes correspondantes aux protéines d'intérêt ont ensuite été photographiées dans une chambre noire (Epichemi³ darkroom, UVP Bioimaging system) équipée d'une caméra munie d'un dispositif à transfert de charge (CCD camera, Hamamatsu). Une analyse semi-quantitative de la densité optique des bandes révélées sur les images a ensuite été effectuée à l'aide du logiciel Image J (Image J, NIH). Les résultats ont été normalisés en divisant la valeur de densité optique obtenue pour chacune des protéines par la valeur de densité optique obtenue pour l'alpha-tubuline dans le même puits. Finalement, pour l'analyse statistique des résultats, les résultats obtenus pour chacun des trois groupes ont été comparés ensemble, en un seul bloc, par un test statistique non paramétrique (Kruskal-Wallis) à l'aide du logiciel SPSS (SPSS Inc., Chicago IL). Étant donné le faible effectif dont nous disposons et puisque l'évaluation de l'expression de certaines protéines dans des modèles animaux en utilisant l'immunobuvardage de type Western entraîne une certaine variabilité, d'autant plus lorsque ce sont des protéines dont l'abondance relative est faible comme les sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA, nous avons préféré être conservateur dans l'analyse statistique de nos résultats. Ainsi, pour notre analyse, nous avons considéré une différence comme étant significative en utilisant un seuil de signification α de 0,01.

CHAPITRE III

RÉSULTATS

Des analyses par immunobuvardage de type Western ont été réalisées afin d'évaluer l'expression relative des différentes sous-unités GluR1, GluR2, NR2A et NR2B des récepteurs AMPA et NMDA ainsi que celle des protéines pré et postsynaptiques synaptophysine et PSD-95 dans les cortex visuel, auditif et somatosensoriel primaires ainsi que dans le cortex frontal de souris aveugles énuclées à la naissance et anophtalmes congénitales par rapport à des souris voyantes. Les résultats sont exprimés en fonction du résultat obtenu chez les souris voyantes ayant servi de contrôle. La quantité de protéine à charger a été déterminée de manière à s'assurer d'être dans la zone de réponse linéaire de l'appareil d'acquisition du signal de chimiluminescence. Pour ce faire, nous avons fait une courbe représentant la valeur de densité optique obtenue lors de l'analyse densitométrique en fonction de la quantité de protéine chargée pour chacun des anticorps (Figure 3.1). Nous avons ainsi déterminé que le signal obtenu en chargeant 4 µg de protéines par puits était dans la zone de réponse linéaire de l'appareil de détection avec tous les anticorps utilisés.

Les conditions expérimentales pour l'immunobuvardage ont été optimisées pour chacune des protéines étudiées en suivant les recommandations du fabricant de l'appareil utilisé pour l'immunobuvardage Western ainsi que celles suggérées par la littérature (Alegria-Schaffer *et al.*, 2009; MacPhee, 2010) et toutes les membranes n'ont montré qu'une seule bande spécifique au poids moléculaire attendu excepté pour PSD95 pour lequel on obtenait deux bandes d'un poids moléculaire différant de moins de 5 kDa. Ces deux bandes correspondent vraisemblablement aux deux isoformes de la protéine PSD95 présentes chez la souris, soit PSD95 α et PSD95 β (Chetkovich *et al.*, 2002), dont les poids moléculaires sont respectivement de 95kDa et 98kDa. L'analyse de la séquence ayant servi d'antigène pour la fabrication de l'anticorps anti-PSD95 grâce au logiciel Basic Local Sequence Alignment Search Tool sur le site du National Center for

Biotechnology Information (BLAST, NCBI) a effectivement révélé que l'épitope correspondant à l'anticorps était présent dans les deux isoformes. Pour l'analyse densitométrique, le signal de ces deux bandes a été mesuré ensemble.

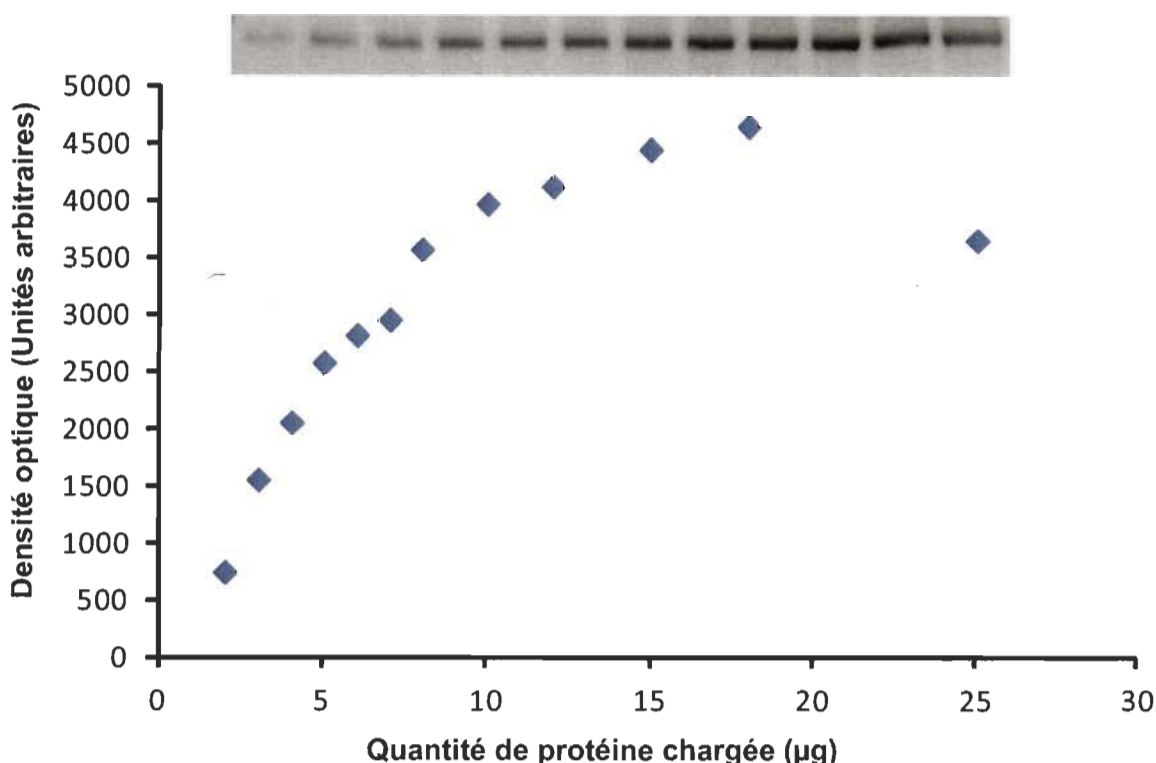


Figure 3.1 Détermination de la zone de détection linéaire dynamique.
Exemple de courbe qui présente le signal obtenu lors de la révélation par chimiluminescence de NR2B en fonction de la quantité de protéines chargées. Une quantité croissante de protéine (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 15, 18, 25 µg) a été chargée et la densité optique des bandes obtenues lors de la révélation par chimiluminescence a été mesurée avec le logiciel Image J. Le signal obtenu entre 2 et 8 µg de protéine était dans la zone de réponse linéaire de l'appareil ($r^2 = 0,9667$).

3.1 Expression des sous-unités GluR1 et GluR2 des récepteurs AMPA

Dans le cortex visuel primaire, l'expression des protéines GluR1 et GluR2 est demeurée inchangée malgré la perte d'afférences visuelles pendant une longue période chez les souris aveugles depuis la naissance, tant énucléées qu'anophtalmes. En effet, les résultats obtenus ne montrent aucune différence significative du niveau d'expression de

GluR1 entre les différents groupes expérimentaux ($p = 0.688$) ni du niveau d'expression de GluR2 ($p = 0.911$) dans ce cortex.

Tout comme les résultats de Goel chez les rats élevés à l'obscurité pendant quatre semaines (Goel *et al.*, 2006), nos résultats semblent suggérer une tendance à la baisse du niveau d'expression de la sous-unité GluR1 dans le cortex somatosensoriel des souris aveugles. Toutefois, la diminution mesurée dans nos expériences est d'environ 23 % par rapport au contrôle, ce qui est nettement moins important que celle mesurée lors des expériences de Goel, qui était d'environ 50 %, et elle n'est pas statistiquement significative à un niveau de confiance de 99 % ($p = 0.013$). Cette tendance à la baisse du niveau d'expression de GluR1 dans le cortex somatosensoriel primaire n'est pas retrouvée dans le cortex auditif, où le niveau d'expression est demeuré très semblable entre les souris aveugles et les contrôle ($p = 0.389$).

Pour l'expression de la sous-unité GluR2, nos résultats montrent plutôt une légère tendance à la hausse de son expression dans le cortex auditif primaire des souris aveugles, mais cette tendance n'est, encore une fois, pas significative ($p = 0.023$). Dans le cortex somatosensoriel primaire, le niveau d'expression de GluR2 ne montre aucune modulation près d'être statistiquement significative ($p = 0.323$).

Dans le cortex frontal, les résultats obtenus ne montrent aucune modulation significative de l'expression des sous-unité GluR1 ($p = 0.262$) ni de celle de la sous-unité GluR2 ($p = 0.688$).

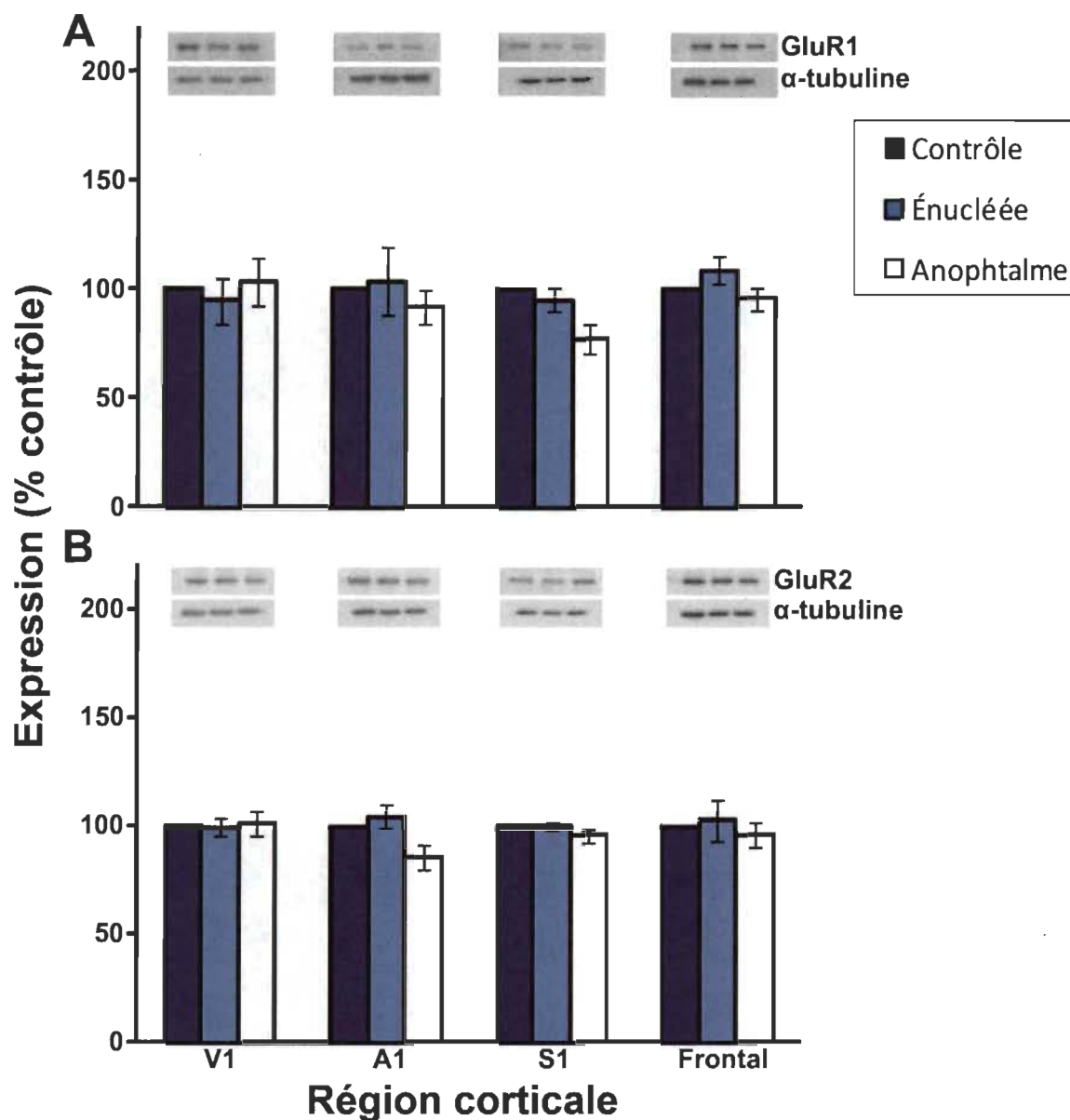


Figure 3.2 Expression des sous-unités GluR1 et GluR2 des récepteurs AMPA. L'expression des protéines (A) GluR1 et (B) GluR2 a été évaluée dans les cortex visuel (V1), auditif (A1) et somatosensoriel (S1) primaires ainsi que dans le cortex frontal. L'expression de ces protéines dans les différents cortex de souris C57bl/6J énucléées à la naissance (bleu) et ZRDCT/An anophtalmes congénitales (blanc) a été évaluée par rapport au niveau d'expression chez des souris C57bl/6J voyantes (violet). Les valeurs obtenues ont toutes été normalisées en utilisant la protéine α -tubuline comme protéine de référence. La moyenne des résultats de cinq répliques ($n = 5$) a été reportée graphiquement. Les barres d'erreur montrent l'écart-type standard de la moyenne (SEM). Aucune différence significative n'a été détectée entre les différents groupes expérimentaux dans aucune des régions corticales étudiées ($p > 0.01$).

Une faible modulation de l'expression de chacune de ces protéines dans le sens opposé, comme une faible augmentation de GluR1 et une faible diminution de GluR2 dans une même expérience, pourrait suggérer une modification de la composition des récepteurs AMPA entraînant une différence fonctionnelle importante dans la cinétique des courants postsynaptiques excitateurs attribuables aux récepteurs AMPA, mais ne serait pas nécessairement détectable lors de l'analyse individuelle de l'expression de chacune de ces protéines par immunobuvardage de type Western étant donné la précision limitée de cette méthode. Nous avons donc calculé un rapport de l'expression de ces protéines afin de s'assurer qu'une telle différence ne serait pas masquée. Les résultats obtenus ne montrent pas de différence significative du rapport GluR1/GluR2 ni dans le cortex visuel ($p = 0,459$), ni dans les cortex auditif ($p = 0,198$), somatosensoriel ($p = 0,097$) ou frontal ($p = 0,237$).

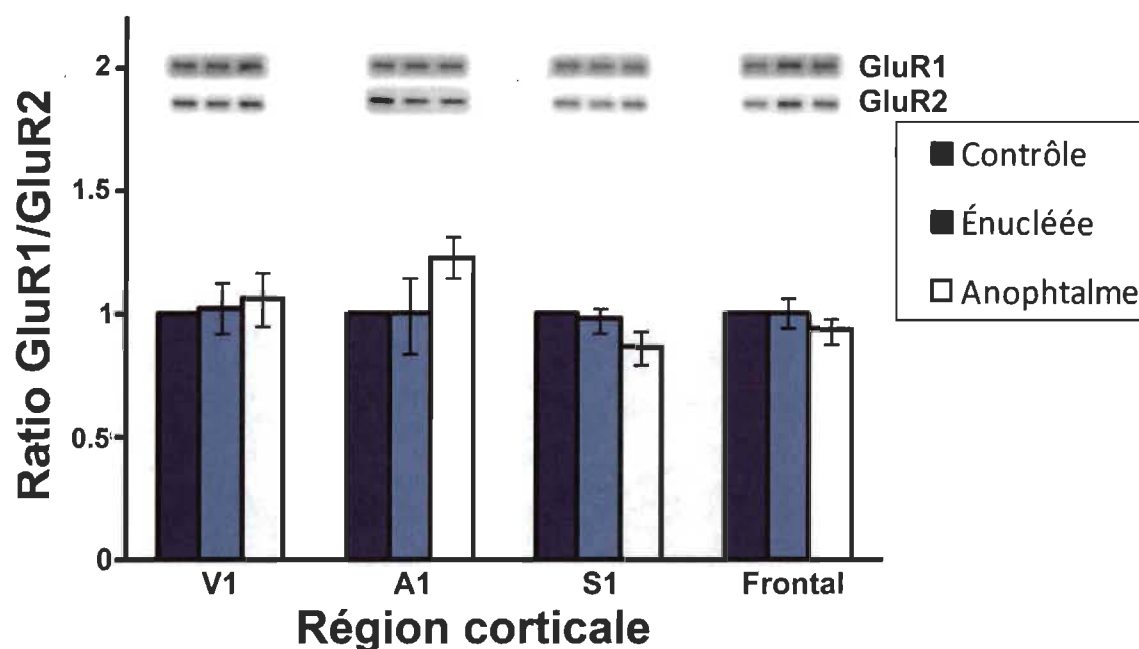


Figure 3.3 **Rapport GluR1/GluR2.**

Les résultats obtenus ne démontrent aucune modulation significative du rapport GluR1/GluR2 dans les différentes régions corticales des souris aveugles par rapport à celui observé chez les souris voyantes ($p > 0.01$).

3.2 Expression des sous-unités NR2A et NR2B des récepteurs NMDA

Contrairement aux résultats rapportés dans la littérature chez les animaux privés d'activité visuelle depuis la naissance jusqu'aux alentours de la fin de la période critique de plasticité (Quinlan *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2000; Yashiro *et al.*, 2005), nos résultats n'ont montré aucune modulation significative de l'expression de la sous-unité NR2A ($p = .804$) ni de la sous-unité NR2B ($p = 0.911$) des récepteurs NMDA dans le cortex visuel primaire chez les souris adultes aveugles depuis la naissance.

Les résultats obtenus n'ont démontré aucune modification significative du niveau d'expression de NR2A dans les cortex auditif ($p = 0.355$) et somatosensoriel ($p = 0.163$) primaires ni dans le cortex frontal ($p = 0.276$) chez les souris aveugles. Le niveau d'expression de la sous-unité NR2B est lui aussi demeuré inchangé dans tous ces cortex (A1 $p = 0.911$; S1 $p = 0.141$; frontal $p = 0.323$).

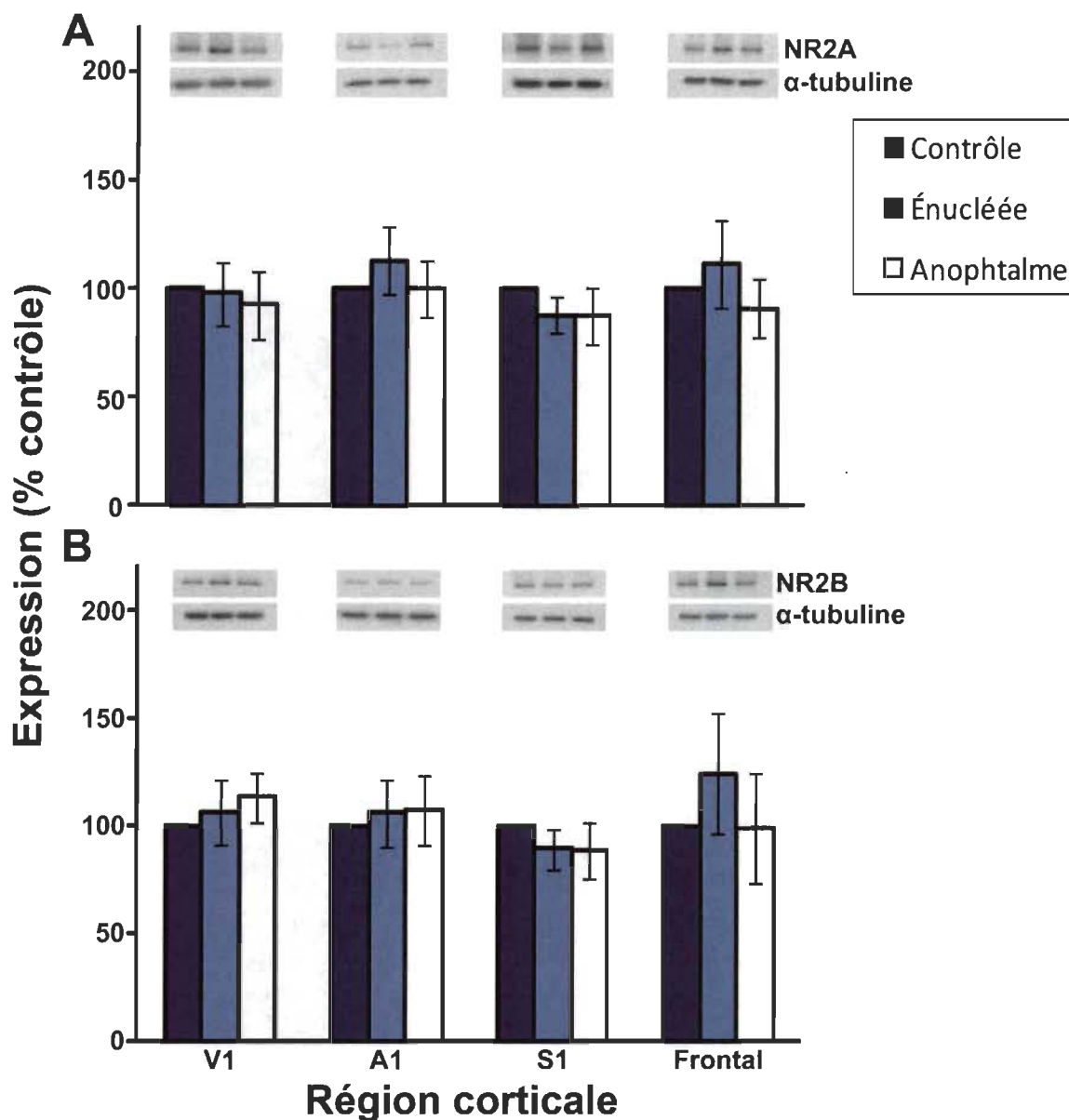


Figure 3.4 Expression des sous-unités NR2A et NR2B des récepteurs NMDA. Les résultats obtenus montrent que l'expression des protéines (A) NR2A et (B) NR2B n'est pas modulée de manière significative dans les différentes régions corticales des souris adultes privées d'activité visuelle depuis la naissance ($n = 5$; $p > 0.01$).

Les mesures de densité optique des bandes obtenues pour chacune des protéines sur une même membrane ont été reportées l'une sur l'autre afin d'obtenir le rapport NR2A/NR2B. Les résultats obtenus montrent une légère tendance à la baisse du rapport NR2A/NR2B dans le cortex visuel des souris aveugles, mais la diminution observée n'est pas statistiquement significative ($p = 0.034$). Le rapport NR2A/NR2B est demeuré

inchangé dans les cortex auditif ($p = 0.045$), somatosensoriel ($p = 0.911$) et frontal ($p = 0.772$) des souris aveugles.

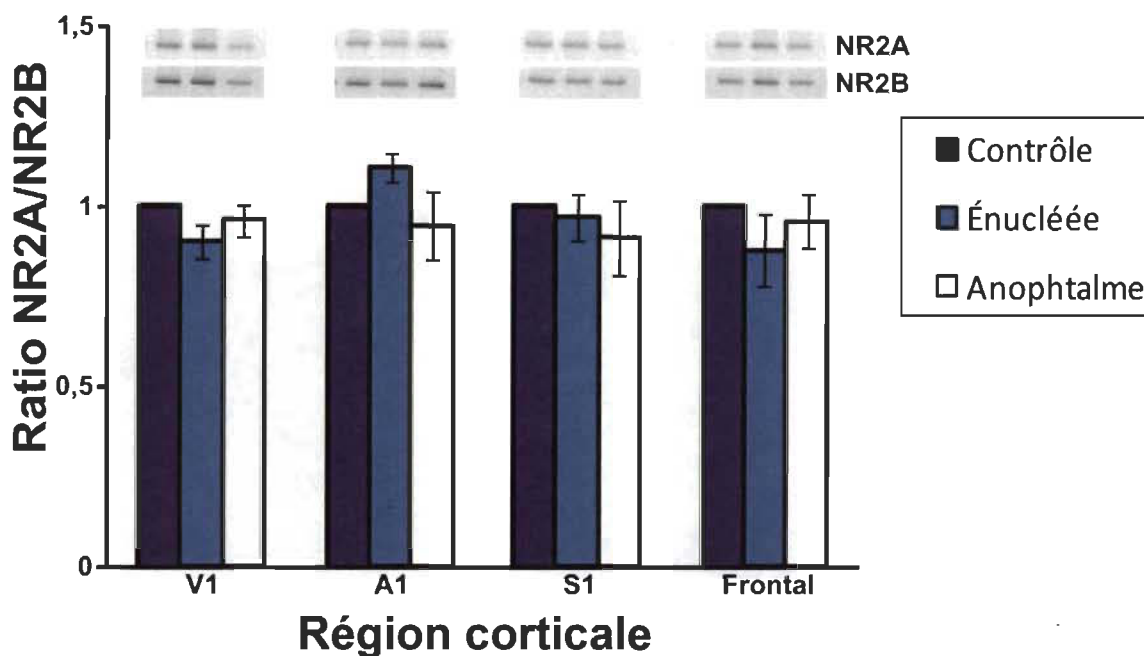


Figure 3.5 Rapport NR2A/NR2B.

L'absence d'activité visuelle n'entraîne aucune modification significative du rapport NR2A/NR2B dans les différentes régions corticales ($p > 0.01$).

3.3 Expression des protéines Synaptophysine et PSD95

Comme pour les sous-unités principales des récepteurs AMPA et NMDA, nos résultats n'indiquent aucune modulation significative de l'expression de la synaptophysine ($p = 0.199$) ni de PSD95 ($p = 0.459$) dans le cortex visuel primaire entre les souris voyantes et les souris adultes aveugles depuis la naissance.

Finalement, nos résultats indiquent que la perte de vision depuis la naissance n'affecte pas le niveau d'expression de la synaptophysine et de PSD95 dans les cortex auditif ($p = 0.0505$; $p = 0.772$) et somatosensoriel ($p = 1.00$; $p = 0.041$) primaires de souris adultes et aucune modulation n'a été mesurée non plus dans le cortex frontal entre les groupes expérimentaux ($p = 0.572$; $p = 0.316$).

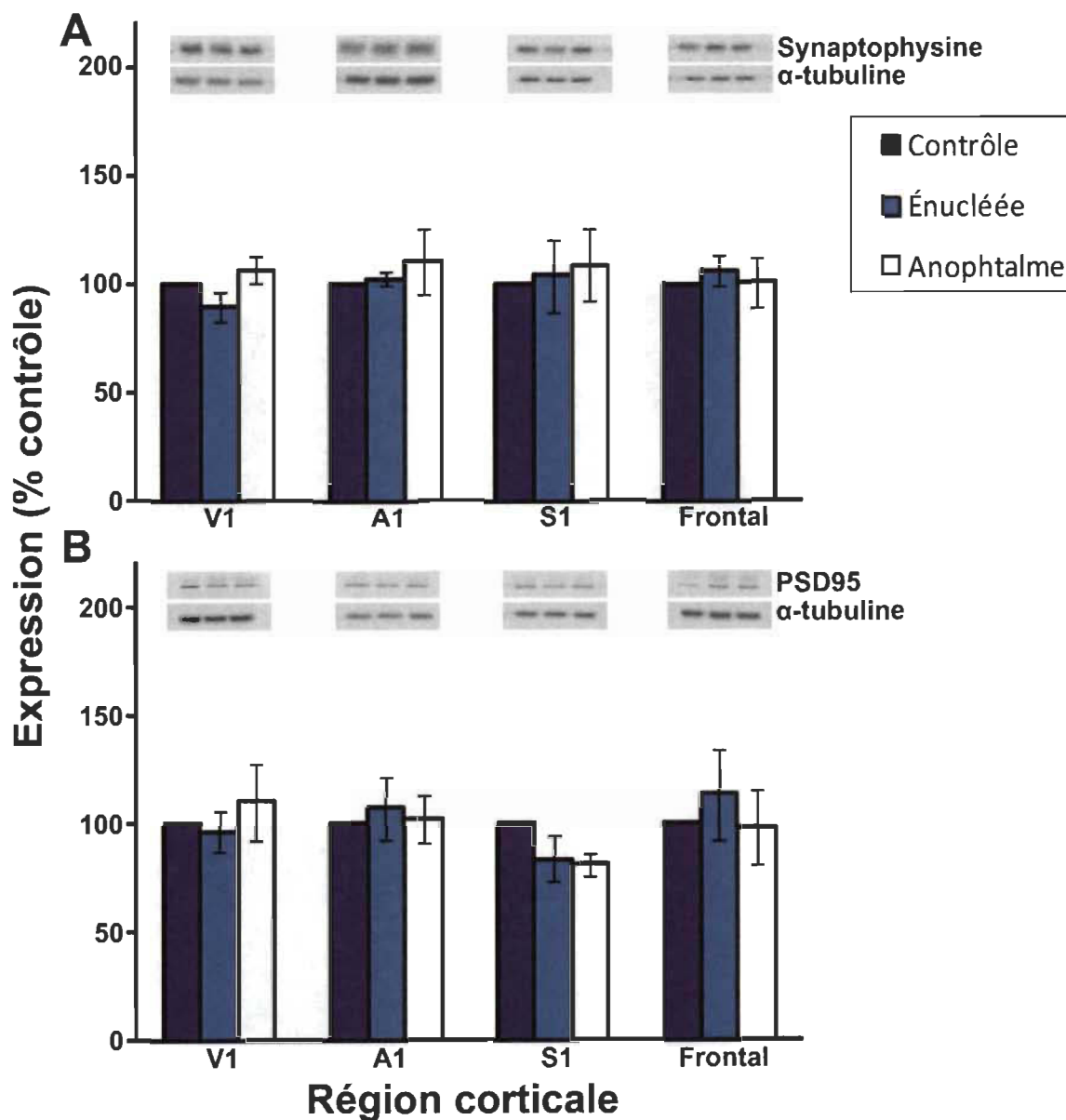


Figure 3.6 Expression des protéines synaptiques Synaptophysine et PSD95. Aucune modification significative du niveau d'expression de la protéine présynaptique (A) synaptophysine et de la protéine postsynaptique (B) PSD95 n'a été observée dans les différentes aires corticales de souris adultes privées de vision depuis la naissance ($n = 5$; $p > 0.01$).

CHAPITRE IV

DISCUSSION ET CONCLUSION

L'objectif de cette étude était d'évaluer si l'absence d'activité visuelle, et plus particulièrement d'activité rétinienne, depuis la naissance modifie la composition biochimique des synapses dans les différents cortex sensoriels primaires à l'âge adulte en utilisant des souris aveugles depuis la naissance comme modèle animal.

Les résultats que nous avons obtenus sont différents de ceux auxquels nous nous attendions. En effet, l'abondante littérature consultée et résumée dans la section introduction de ce mémoire démontre que l'activité modifie l'expression des différentes sous-unités des récepteurs responsables de la transmission synaptique excitatrice dans le néocortex. Ceci justifiait de formuler l'hypothèse que l'expression des protéines que nous avons étudiées serait modifiée dans les différents cortex sensoriels tant qu'aucune activité visuelle ne serait présente. Or, les résultats que nous avons obtenus démontrent que l'expression des sous-unités GluR1 et GluR2 des récepteurs AMPA, celle des sous-unités NR2A et NR2B des récepteurs NMDA ainsi que celle de la synaptophysine et de PSD95 ne sont pas modifiées dans aucun des cortex sensoriels étudiés chez les souris adultes aveugles depuis la naissance.

Dans cette section, nous reviendrons sur les résultats que nous avons obtenus en lien avec nos hypothèses de recherche. Nous présenterons ensuite les conditions particulières de notre étude permettant d'expliquer les différences entre les résultats que nous avons obtenus et ceux auxquels nous nous attendions.

4.1 Modulation du protéome synaptique dans le cortex visuel des souris aveugles

Il était attendu qu'en absence d'activité visuelle, le cortex visuel des souris aveugles demeure immature et biochimiquement différent de celui des souris voyantes.

Nous nous attendions ainsi à observer, chez les souris aveugles adultes, une expression des protéines semblables à ce qui est observé chez les souris voyantes immatures, soit une expression plus importante des sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA favorisant la transmission synaptique. L'expression des sous-unités GluR1 et NR2B devraient être favorisées chez ces souris par rapport à l'expression des sous-unités GluR2 et NR2A. Cette hypothèse était appuyée par plusieurs recherches antérieures. Parmi les plus importantes, une étude avait déjà démontré une augmentation de l'expression de GluR1 dans le cortex visuel de rats de quatre semaines élevés à l'obscurité (Goel *et al.*, 2006) alors qu'une autre avait démontré une diminution du rapport NR2A/NR2B dans le cortex visuel de souris de sept semaines élevées à l'obscurité (Chen et Bear, 2007). Aussi, une étude a permis de constater que les neurones du cortex visuel de rats adultes élevés à l'obscurité demeuraient immatures dans leurs fonctions (Fagiolini *et al.*, 1994). Ces études laissent supposer que l'activité visuelle est nécessaire pour la maturation, tant des fonctions que de la biochimie corticale. Nous nous attendions alors à ce que, en absence d'activité visuelle, la composition des récepteurs AMPA et NMDA dans le cortex visuel demeure semblable à celle observée chez les individus voyants immatures, et donc à ce que l'expression des sous-unités GluR1 des récepteurs AMPA et NR2B des récepteurs NMDA soit favorisée par rapport à l'expression des sous unités GluR2 et NR2A dans le cortex visuel des souris aveugles depuis la naissance.

Par ailleurs, bien que le rôle de l'activité visuelle sur l'expression de la synaptophysine et de PSD95 dans le cortex visuel ait été peu étudié, il y a néanmoins des études qui montrent une diminution de leur expression dans le cortex visuel de jeunes animaux élevés à l'obscurité pendant une courte période (Cotrufo *et al.*, 2003; Jaffer *et al.*, 2012a). De plus, la diminution de la quantité d'épines dendritique dans le cortex visuel de souris anophtalmes (Kaiserman-Abramof, 1979) nous avait conduits à émettre l'hypothèse que, puisque ces protéines sont de bons indicateurs de changements de la quantité de synapses (Hunt *et al.*, 1996; Chakrabarti *et al.*, 2007; Latefi *et al.*, 2009; Micheva *et al.*, 2010; Calkins *et al.*, 2011) et que la diminution de la quantité d'épine dendritique suggère une diminution de la quantité de synapse, alors le niveau

d'expression de ces protéines devrait être diminué dans le cortex visuel des souris aveugles depuis la naissance.

Toutefois, nos résultats démontrent que, contrairement à ce dont nous nous attendions et ce qui est suggéré dans la littérature, le niveau d'expression de toutes ces protéines dans le cortex visuel primaire de souris ayant subi une perte totale, permanente et prolongée d'activité visuelle n'est pas différent du niveau d'expression observé dans le cortex visuel de souris adultes ayant eu une expérience visuelle normale. Le résultat le plus inattendu que nous avons obtenu est certainement l'absence de diminution du rapport NR2A/NR2B chez les souris aveugles. En effet, une étude sur des souris C57BL/6J âgées de 49 jours, un âge où la période critique est normalement dépassée, avait déjà démontré une diminution significative de ce rapport lorsque les souris étaient élevées dans un environnement sans lumière depuis le troisième jour suivant la naissance (Chen et Bear, 2007). Les résultats que nous avons obtenus sont donc très surprenants puisque les souris utilisées pour nos expériences étaient âgées de 60 jours, soit seulement 11 jours de plus que ces souris chez lesquelles des différences de l'expression des protéines NR2A et NR2B ont été observées. Il est donc possible que d'importants changements de la composition biochimique synaptique puissent survenir précisément dans la période entre le jour 49 et le jour 60 dans le cortex visuel de souris aveugles. Ainsi, la durée de la privation visuelle pourrait être un paramètre particulièrement important pour expliquer les modifications biochimiques observées dans le cortex visuel lors de la perte d'afférences visuelles. Par ailleurs, d'autres paramètres comme le type de privation visuelle et la fraction biochimique étudiée peuvent expliquer les différences observées lors de notre étude comparativement aux études menées jusqu'à présent sur la composition biochimique des synapses dans le cortex des individus aveugles.

4.2 Modulation du protéome synaptique dans les cortex auditif et somatosensoriel de souris aveugles

La modulation de l'expression des sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA dans les cortex auditif et somatosensoriel d'animaux privés visuellement n'avait pas,

jusqu'à maintenant, fait l'objet de beaucoup d'étude. En effet, aucune étude n'avait démontré de modification de l'expression des sous-unités des récepteurs NMDA dans ces cortex sensoriels, et seule une étude avait démontré que l'expression de la sous-unité GluR1 des récepteurs AMPA était diminuée dans les cortex auditif et somatosensoriel chez les rats de quatre semaines élevés à l'obscurité (Goel *et al.*, 2006). Ainsi, en fonction de ces observations et puisque les animaux aveugles doivent utiliser davantage leurs autres sens afin de compenser la perte de vision, nous nous attendions à ce qu'une sollicitation accrue des cortex auditif et somatosensoriel chez les souris aveugles se traduise par une augmentation de l'activité dans ces cortex, ce qui entraînerait conséquemment une augmentation des sous-unités GluR2 et NR2A et une diminution de l'expression des sous-unités GluR1 et NR2B dans ces cortex chez les souris adultes aveugles depuis la naissance.

Par ailleurs, bien qu'il n'existe pas d'étude qui montre une modulation de l'expression de la synaptophysine ou de PSD95 dans les cortex non visuels chez des animaux privés d'activité visuelle, l'augmentation attendue de l'expression de la sous-unité NR2A des récepteurs NMDA ainsi que l'étude démontrant une augmentation de la densité d'épines dendritiques dans le cortex auditif de rats énucléés (Ryugo *et al.*, 1975) nous avait conduits à émettre l'hypothèse que l'expression de la synaptophysine et de PSD95 serait augmentée dans les cortex auditif et somatosensoriel de souris aveugles.

Contrairement aux résultats attendus, nous n'avons pas détecté de modulation significative de l'expression de ces protéines dans les cortex auditif et somatosensoriel des souris privées d'activité visuelle depuis la naissance jusqu'à l'âge adulte par rapport au niveau d'expression mesurée chez les souris ayant une activité visuelle normale.

4.3 Effet de la plasticité intermodale sur le protéome synaptique

Pour cette étude, deux modèles de souris aveugles ont été utilisés. En plus d'utiliser des souris C57BL/6J énucléées à la naissance, nous avons aussi utilisé des souris provenant d'une autre souche, les souris anophtalmes congénitales ZRDCT/An,

chez lesquelles les yeux et la rétine ne se développent jamais. L'intérêt de cette souche pour notre étude était que, contrairement à ce qui est observé chez les souris C57BL/6J énucléées à la naissance, le cortex visuel primaire des souris ZRDCT/An adultes est activé par des stimulations auditives (Chabot *et al.*, 2007), ce qui suggère qu'une plasticité intermodale est présente chez les souris ZRDCT/An et non chez les souris C57BL/6J énucléées. Nous souhaitions alors vérifier si cette prise en charge du cortex visuel primaire par les modalités sensorielles intactes pourrait faire en sorte que la biochimie synaptique des cortex sensoriels primaires soit affectée différemment entre les souris énucléées et les souris anophtalmes.

En effet, considérant que l'expression des différentes protéines synaptiques étudiées dans notre recherche dépend de l'activité corticale, et en accord avec les mécanismes de plasticité homéostatique décrits dans la section 1.4.1.2, l'activation intermodale dans le cortex visuel des souris anophtalmes pourrait permettre un développement relativement normal de la neurobiochimie corticale dans ce cortex alors que l'absence d'activité, tant visuelle qu'intermodale, affecterait la biochimie corticale dans le cortex visuel des souris énucléées en augmentant l'expression de protéines favorisant la transmission synaptique comme GluR1 et NR2B.

Concernant les cortex auditifs et somatosensoriels, très peu d'études s'étaient intéressées jusqu'à présent aux modulations du protéome synaptique dans les cortex sensoriels des modalités sensorielles intactes après la privation sensorielle. En accord avec la seule étude de ce genre, nous nous attendions à observer chez les souris énucléées, comme chez les rats élevés à l'obscurité (Goel *et al.*, 2006) une diminution du ratio GluR1/GluR2 dans les cortex auditif et somatosensoriel primaires, qui serait consécutive à une diminution, par des mécanismes de plasticité homéostatique, de la force synaptique dans ces cortex en réponse à augmentation de l'utilisation des modalités sensorielles auditive et somatosensorielle chez les individus aveugles (Desai *et al.*, 2002). Dans le même ordre d'idée, nous nous attendions aussi à une augmentation du ratio NR2A/NR2B dans ces cortex. La plasticité intermodale chez les souris anophtalmes aurait pu entraîner des modifications de la biochimie corticale des cortex

auditif et somatosensoriel différente chez ces souris puisque l'activation du cortex visuel lors de stimulation auditive chez la souris anophtalmes (Chabot *et al.*, 2007) suggère qu'il est utilisé pour le traitement d'information non visuelle. Alors, puisqu'une partie de l'activité auditive et somatosensorielle pourrait être traitée par le cortex visuel, et considérant que les mécanismes de plasticité homéostatiques agissent de manière globale afin de stabiliser le niveau d'activité d'un réseau neuronal, il n'aurait pas été surprenant de constater que la composition des récepteurs AMPA et NMDA des souris anophtalmes soit semblable à celle des souris voyantes, l'utilisation du cortex visuel pour le traitement d'information non visuelle venant compenser l'augmentation d'activité auditive et somatosensorielle entraînée par l'utilisation accrue de ces sens chez les aveugles.

Notre hypothèse était donc que l'activité non visuelle dans le cortex visuel des souris anophtalmes compenserait, au moins en partie, les effets de l'absence d'activité visuelle durant le développement et qu'ainsi, le niveau d'expression des protéines synaptiques étudiées dans le cortex visuel des souris anophtalmes serait comparable à celui mesuré chez les souris voyantes et différent de celui des souris énucléées.

Tel qu'attendu, le niveau d'expression des protéines GluR1, GluR2, NR2A, NR2B, synaptophysine et PSD95 n'a pas été modulé de manière significative chez les souris anophtalmes par rapport aux souris contrôles voyantes. Par contre, puisqu'aucune modulation du niveau d'expression de ces protéines n'a été mesurée non plus chez les souris énucléées à la naissance, il est impossible de déterminer, avec les conditions expérimentales que nous avons employées pour cette étude, si l'absence de modification du niveau d'expression de ces protéines chez les souris énucléées par rapport aux souris contrôles est une conséquence spécifiquement attribuable à la plasticité intermodale.

Une manière d'interpréter ces résultats serait qu'il est possible que, peu importe le type de privation visuelle, le niveau d'expression de ces protéines soit le même chez les souris aveugles et chez les souris voyantes à l'âge adulte. On pourrait alors émettre l'hypothèse que la privation visuelle modifie l'expression de différentes protéines

synaptiques à certains stades développementaux, mais pas le niveau d'expression une fois les cortex matures. Cette hypothèse serait concordante avec les résultats obtenus chez les chats ayant subi une énucléation monoculaire, chez lesquels on observe une modification de la trajectoire développementale de l'expression des sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA, mais un niveau d'expression comparable entre les chats énucléés et les chats voyants à l'âge adulte (Beston *et al.*, 2010).

Nos résultats pourraient aussi suggérer une l'existence de plasticité intermodale chez nos modèles de souris énucléées. En effet, bien que les résultats de l'analyse immunohistochimique du facteur de transcription nucléaire c-fos, utilisé comme marqueur d'activité neuronale, dans le cortex visuel de souris adultes énucléées à la naissance et soumises à des stimulations auditives ait suggéré qu'il n'y avait pas de plasticité intermodale chez les souris C57bl/6J énucléées à la naissance contrairement aux souris anophtalmes ZRDCT/An (Chabot *et al.*, 2006), il reste possible que le cortex visuel de ces souris puisse tout de même être pris en charge par les modalités sensorielles intactes. En effet, des études ont démontré une prise en charge intermodale du cortex visuel chez d'autres rongeurs énucléés à la naissance comme les rats (Piche *et al.*, 2007) et les hamsters (Israeli *et al.*, 2002), et même chez des souris C57bl/6J adultes énucléées monoculairement (Van *et al.*, 2011). Ainsi, il est possible que le cortex visuel des souris C57bl/6J énucléées à la naissance puisse être pris en charge par d'autres modalités sensorielles, mais que l'analyse immunohistochimique du c-fos ne permette pas de révéler cette plasticité intermodale à cause de son manque de sensibilité et de reproductibilité. En effet, bien qu'elle soit utilisée fréquemment comme marqueur d'activité neuronal, l'expression de la protéine c-fos peut être très variable d'un individu et d'une expérience à l'autre puisque plusieurs facteurs, dont le stress, les drogues comme la kétamine, et la souche de souris utilisée, peuvent affecter son expression (Dragunow et Faull, 1989). Les résultats des travaux présentés dans ce mémoire pourraient donc suggérer qu'il y a de la plasticité intermodale chez les souris énucléées à la naissance, contrairement à ce qui est suggéré par les résultats obtenus en immunomarquage avec le c-fos.

4.4 Interprétation des résultats en fonction de différents paramètres expérimentaux

Alors que pratiquement toutes les études jusqu'à présent suggéraient que l'activité visuelle afférente pouvait influencer la composition biochimique des synapses du néocortex, les résultats que nous avons obtenus démontrent qu'au contraire, l'expression des principales sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA ainsi que de deux protéines synaptiques majeures, la synaptophysine et PSD95, n'est pas modifiée dans les cortex visuel, auditif et somatosensoriel de souris adultes lors d'une perte totale et permanente d'activité visuelle. Ces résultats surprenants démontrent que l'expression des protéines qui influencent la force de la transmission synaptique ne dépend pas seulement de la présence ou non d'activité visuelle au cours du développement. En effet, tel que mentionné dans l'introduction, les modifications neuroplastiques qui surviennent dans le néocortex des aveugles dépendent de plusieurs paramètres, et particulièrement de la manière dont survient la perte de vision ainsi que sa durée. Ces paramètres doivent donc être pris en compte afin d'interpréter correctement les résultats obtenus lors de notre étude. Dans cette section, nous décrirons comment ces différents paramètres peuvent influencer l'expression des protéines que nous avons étudiées et expliquer les différences entre les résultats que nous avons obtenus lors de cette étude et les résultats auxquels nous nous attendions en regard de la littérature. Nous verrons aussi que le type de souris contrôle que nous avons utilisé, l'environnement dans lequel les souris utilisées pour ces expériences ont été élevées ainsi que la fraction biochimique étudiée pourrait aider à comprendre les résultats obtenus.

4.4.1 Type de privation visuelle

Plusieurs types de privations visuelles peuvent être utilisées afin d'étudier l'impact de l'activité visuelle afférente sur le néocortex. Le choix du type de privation visuelle

repose évidemment sur ce que l'on souhaite étudier. Par exemple, lorsque l'on tente de déterminer si certains de ces mécanismes pourraient permettre le rétablissement d'une vision normale après une période plus ou moins prolongée d'activité visuelle, il est préférable d'utiliser un type de privation visuelle réversible comme l'élevage à l'obscurité ou la suture des paupières. Si l'on cherche plutôt à étudier la vision binoculaire ou l'établissement des colonnes de dominance oculaire, on peut utiliser une privation visuelle partielle comme l'énucléation monoculaire. La très grande majorité des études sur les modifications de la biochimie des synapses dans le néocortex menées jusqu'à présent ont démontré des modifications chez les animaux élevés à l'obscurité (Neve et Bear, 1989; Carmignoto et Vicini, 1992; Quinlan *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2000; Philpot *et al.*, 2001; Cotrufo *et al.*, 2003; Fagiolini *et al.*, 2003; Gianfranceschi *et al.*, 2003; Yashiro *et al.*, 2005; Goel *et al.*, 2006; Chen et Bear, 2007; Corson *et al.*, 2009; Goel *et al.*, 2011; Murphy *et al.*, 2012; Jaffer *et al.*, 2012a), mais il n'existait jusqu'à maintenant aucune étude sur la modulation de l'expression des protéines composant les récepteurs glutamatergiques ou des protéines synaptiques chez des animaux qui n'ont plus du tout d'yeux et donc de rétine.

Une distinction importante entre la privation visuelle réversible et la privation visuelle permanente comme celle que nous avons utilisée est que dans le premier cas, la rétine demeure présente et peut toujours exercer une certaine influence sur l'activité du cortex visuel. Par exemple, la suture des paupières ne permet pas d'éliminer totalement la stimulation des photorécepteurs de la rétine puisqu'une faible quantité de lumière peut diffuser à travers les paupières (Wiesel et Hubel, 1963a). De plus, même totalement privée de stimuli visuels, la rétine génère des potentiels d'actions qui fournissent de l'information nécessaire à l'assemblage de la circuiterie dans le système visuel immature (Huberman *et al.*, 2008). En effet, au cours du développement, des vagues d'activité spontanée en provenance de la rétine sont transmises par le LGN jusqu'au cortex visuel où elles provoquent des bouffées d'activations intermittentes (Hanganu *et al.*, 2006). Chez la souris, ces vagues d'activation spontanée de la rétine sont présentes dès le développement embryonnaire (Wong, 1999) et leur fréquence diminue avec le début de l'expérience visuelle quelques jours après l'ouverture des yeux autour du 15^e jour

postnatal jusqu'à ce qu'elles disparaissent complètement autour du 21^e jour postnatal (Demas *et al.*, 2003).

Dans les modèles que nous avons utilisés, aucune activité en provenance de la rétine ne pouvait agir sur l'activité corticale au cours du développement postnatal, ce qui pourrait expliquer que nos résultats soient différents des résultats rapportés dans la littérature pour les animaux élevés à l'obscurité ou dont les paupières ont été suturées, d'autant plus que la majorité de ces études ont été faites chez de jeunes animaux alors que les vagues d'activité spontanée rétinienne étaient toujours présente ou disparue depuis peu au moment où les animaux ont été sacrifiés. Toutefois, il est à noter que, bien qu'aucune activité en provenance de la rétine ne soit possible au cours du développement postnatal chez nos modèles, certaines études ont démontré que, bien qu'elle soit altérée, de l'activité spontanée était présente dans le dLGN ainsi que dans le cortex visuel primaire d'animaux privés d'activité rétinienne (Weliky et Katz, 1999; Chiu et Weliky, 2001).

La présence d'activité spontanée rétinienne pendant le développement embryonnaire est aussi une distinction importante entre les souris énucléées et les souris anophtalmes. En effet, la principale distinction entre ces deux modèles de souris aveugle est la transmission prénatale d'activité corrélée en provenance de la rétine et des structures sous-corticales vers le cortex présente chez les souris énucléées et non chez les souris anophtalmes. Plusieurs études anatomiques chez d'autres animaux ont démontré que l'activité spontanée de la rétine est nécessaire au développement normal des connexions dans le système visuel, entre autres pour l'élaboration de l'organisation rétinotopique (Butts et Rokhsar, 2001; Butts *et al.*, 2007) et la ségrégation des afférences rétiniennes au niveau des structures visuelles (Stryker et Harris, 1986; Shatz et Stryker, 1988; Butts *et al.*, 2007). Il a aussi été démontré que l'activité de la rétine embryonnaire est importante à la neurogénèse corticale chez la souris (Bonetti et Surace, 2010). Par contre, aucune étude jusqu'à maintenant ne s'était intéressée à l'impact de l'activité de la rétine embryonnaire sur le protéome cortical.

Les résultats de notre étude ont donc permis de démontrer que l'activité prénatale de la rétine ne modifie pas l'expression des principales sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA de même que des protéines synaptophysine et PSD95 chez les souris adultes puisqu'aucune différence statistiquement significative n'a été mesurée entre les souris anophtalmes et celles énucléées à la naissance.

4.4.2 Durée de la privation visuelle

Un des aspects majeurs qui distingue notre étude des autres études sur la modulation de l'expression de différentes protéines synaptiques dans les cortex sensoriels d'animaux aveugles est la durée de la privation visuelle. En effet, tel que mentionné dans l'introduction, la majorité des études jusqu'à présent portaient sur les modifications biochimiques suivant des périodes relativement courtes de privation sensorielle, soit tôt au cours du développement, avant et pendant la période critique de plasticité du cortex visuel (Hubel et Wiesel, 1970; Chapman et Stryker, 1993; Desai *et al.*, 2002; Cotrufo *et al.*, 2003; Heynen *et al.*, 2003; Yashiro *et al.*, 2005; Goel *et al.*, 2006; Corson *et al.*, 2009), soit suite à une courte période d'élevage à l'obscurité chez des animaux adultes ayant eu de l'expérience visuelle plus tôt au cours du développement (Gordon et Stryker, 1996; Guire *et al.*, 1999; Yashiro *et al.*, 2005). Les études menées chez les jeunes animaux sont plus abondantes, probablement à cause que la plasticité du cerveau est beaucoup plus importante chez ces animaux et que les modifications qui surviennent au cours de cette période sont plus importantes et donc, plus faciles à mettre en évidence. De plus, certaines études ne s'intéressent pas nécessairement spécifiquement aux modifications corticales chez l'aveugle, mais utilisent plutôt le cortex visuel, dont l'activité sensorielle peut être facilement altérée, pour étudier les mécanismes neuroplastiques fondamentaux du néocortex (Cramer et Sur, 1995; Berardi *et al.*, 2003; Corson *et al.*, 2009; Espinosa et Stryker, 2012) et les modifications moléculaires responsables de l'ouverture et la fermeture des périodes critiques de plasticité dans les différents cortex (Desai *et al.*, 2002; Hensch, 2005). Il est préférable dans ce cas d'utiliser de jeunes animaux chez lesquels la plasticité est maximale.

Bien qu'elles soient peu abondantes, il existe tout de même quelques études biochimiques menées sur des animaux adultes dont l'activité visuelle est altérée depuis la naissance. Chez le chat élevé dans des conditions d'éclairage normal, par exemple, l'expression de la sous-unité NR2A des récepteurs NMDA augmente normalement jusqu'à atteindre un niveau maximal autour de la cinquième semaine postnatale, puis diminue graduellement jusqu'à la vingtième semaine (Chen *et al.*, 2000). Par contre, chez les chats élevés à l'obscurité, l'expression de cette sous-unité est moindre que chez les chats élevés dans des conditions d'éclairage normal à cinq semaines, mais plus élevé à vingt semaines (Chen *et al.*, 2000). L'augmentation développementale du rapport NR2A/NR2B est donc retardée, mais survient tout de même malgré l'absence d'activité visuelle.

Par ailleurs, chez les chats dont un seul des deux yeux a été suturé à la naissance, on observe, dans les régions du cortex visuel primaire dédiées au traitement de l'information visuelle centrale, périphérique et monoculaire en provenance de l'œil suturé, que l'expression des sous-unités NR1, NR2A, NR2B et GluR1 des récepteurs NMDA et AMPA est généralement faible entre la sixième et la dixième semaine comparativement à celle observée chez les chats du même âge élevés dans des conditions d'éclairage normal, mais que l'expression de toutes ces protéines est rétablie à un niveau semblable à l'âge adulte chez ces deux groupes expérimentaux (Figure 4.1) (Beston *et al.*, 2010).

Ainsi, chez le chat dont l'activité visuelle est altérée depuis un jeune âge, on n'observe pas de modifications importantes de l'expression des sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA à l'âge adulte, mais d'importantes différences de la trajectoire développementale de l'expression de ces protéines. Il semble donc tout à fait probable que la perte d'activité visuelle depuis la naissance induise des changements comparables de la trajectoire développementale de l'expression de ces protéines chez les souris aveugles depuis la naissance et donc, que la trajectoire développementale de l'expression de ces protéines et des autres protéines que nous avons étudiées soit aussi

modifiée. Ainsi, les résultats présentés dans la littérature démontrant une expression plus importante des récepteurs AMPA formés de la sous-unité GluR1 (Goel *et al.*, 2006) et des récepteurs NMDA formés de la sous-unité NR2B (Quinlan *et al.*, 1999; Yashiro *et al.*, 2005) à la fin de la période critique chez des rongeurs élevés à l'obscurité par rapport au niveau d'expression observée chez des rongeurs élevés dans des conditions normales, pourraient n'être attribuable qu'au fait que les données ont été recueillies à un stade précis du développement auquel l'expérience visuelle entraîne une forte augmentation de l'expression de ces sous-unités, alors qu'à l'âge adulte, le niveau d'expression de ces protéines serait le même, qu'il y ait eu ou non de l'activité visuelle.

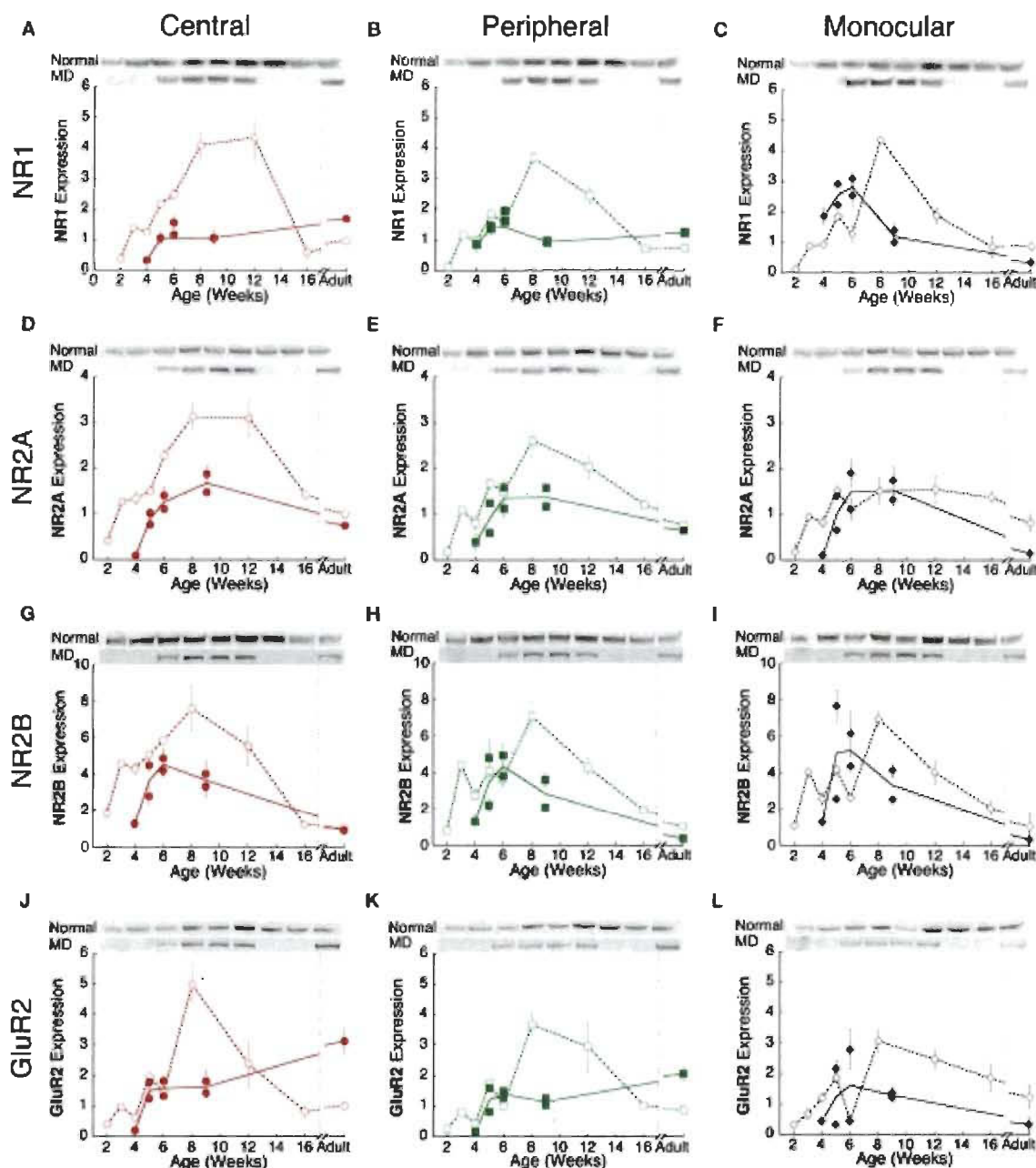


Figure 4.1 Modulation développementale de l'expression des sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA chez le chat après une privation monoculaire.

L'expression des sous-unité NR1, NR2A et NR2B des récepteurs NMDA ainsi que de la sous-unité GluR2 des récepteurs AMPA a été évaluée dans les régions dédiées au traitement de l'information visuelle centrale, périphérique et monoculaire du cortex visuel de chats ayant une activité visuelle normale (ligne pointillée, symboles ouverts) et altérée par la suture d'un œil (ligne et symboles pleins). On remarque une importante différence dans les niveaux d'expression de ces protéines chez les chats âgés entre 6 et 10 semaines, mais des niveaux d'expression comparables à l'âge adulte (Beston *et al.*, 2010).

Notre étude est la première à analyser la modulation de l'expression des sous-unités GluR1 et GluR2 des récepteurs AMPA ainsi que des protéines synaptophysine et PSD95 chez des rongeurs privés d'activité visuelle durant une période prolongée. Par contre, il existe certaines études portant sur l'expression des sous-unités NR2A et NR2B des récepteurs NMDA chez des rongeurs élevés à l'obscurité depuis la naissance jusqu'à un âge au-delà de la période normale de plasticité du cortex visuel (Quinlan *et al.*, 1999; Chen et Bear, 2007). La trajectoire développementale du niveau d'expression de ces protéines au cours du développement normal chez le rat et la souris est légèrement différente de celle observé chez les chats puisque, chez ces rongeurs, le rapport NR2A/NR2B augmente progressivement jusqu'à atteindre un maximum autour du 28^e jour suivant la naissance puis se stabilise à ce niveau plutôt que de diminuer (Quinlan *et al.*, 1999). Chez les rats âgés de six semaines (Quinlan *et al.*, 1999) et les souris âgées de sept semaines (Chen et Bear, 2007) élevées à l'obscurité depuis la naissance, le rapport NR2A/NR2B est diminué comparativement à ceux élevés dans des conditions d'éclairage normal.

Ces études suggèrent que, tel qu'observé chez les chats, l'augmentation du rapport NR2A/NR2B dans le cortex visuel de rongeurs est retardée par l'absence d'activité visuelle. Par contre, il n'existait jusqu'à présent aucune preuve directe dans la littérature démontrant que l'augmentation de ce ratio n'est pas complètement empêchée en absence totale d'activité visuelle et qu'elle survient tout de même chez la souris lorsque la privation visuelle est maintenue suffisamment longtemps. De plus, il est aussi intéressant de constater que le niveau d'expression des autres protéines que nous avons étudiées, les sous unités GluR1 et GluR2 des récepteurs AMPA ainsi que la synaptophysine et PSD95, n'est pas modulé dans les cortex sensoriels des souris aveugles alors que des variations du niveau d'expression de ces protéines avait été observées chez des animaux plus jeunes privés d'activité visuelle pendant une courte période. Ainsi, en regard de la littérature, nos résultats suggèrent qu'il est possible que, comme il a été observé chez les chats (Beston *et al.*, 2010), l'altération de l'activité visuelle modifie la trajectoire développementale de l'expression des sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA de même que celle de la synaptophysine et de PSD95 dans le cortex visuel de la souris. La

durée de la privation visuelle pourrait donc avoir un impact prédominant sur le niveau d'expression de ces protéines dans le cortex visuel.

L'absence de modulation de l'expression des différentes protéines dans les cortex auditif et somatosensoriels des souris aveugles par rapport aux souris voyantes pourrait aussi résulter d'une modification de la trajectoire développementale de l'expression de celles-ci dans ces cortex. Toutefois, il n'existe qu'une seule étude qui démontre une modification du rapport de l'expression de GluR1/GluR2 dans les cortex auditif et somatosensoriel lors de privation visuelle par élevage à l'obscurité (Goel *et al.*, 2006), alors on ne peut pas interpréter les résultats que nous avons obtenus dans ces cortex en regard d'une abondante littérature, comme c'est le cas pour les résultats que nous avons obtenus dans le cortex visuel. Comme aucune étude n'a démontré le niveau d'expression des protéines NR2A, NR2B, synaptophysine et PSD95 dans les cortex auditif et somatosensoriel de rongeurs aveugles, on ne peut donc pas affirmer que le niveau d'expression de ces protéines est différent selon la durée de la privation visuelle puisque nous n'avons que les données correspondant à un temps développemental, l'âge adulte. Par contre, en regard des résultats que nous avons obtenus lors de cette étude et d'autres résultats obtenus au laboratoire qui ne sont pas l'objet de ce présent mémoire, il semble que, contrairement à ce qui est observé dans la littérature pour des privations visuelles de plus courte durée, la privation visuelle depuis la naissance et maintenue durant une période prolongée de temps entraîne très peu de modulation du niveau d'expression des protéines synaptiques dans les différents cortex sensoriels.

4.4.3 Effet du milieu d'élevage

Les conditions dans lesquelles les animaux ont été élevés sont rarement décrites dans les articles scientifiques. Dans l'ensemble des articles consultés, aucun ne mentionnait si les animaux utilisés étaient élevés dans un milieu enrichi ou standard. Pour notre étude, nous avons choisi d'utiliser un milieu d'élevage enrichi afin de favoriser la neuroplasticité ainsi que la prise en charge intermodale dans le cortex visuel des souris anophtalmes (voir section 2.1.4). Or, une étude a démontré que l'élevage en

milieu enrichi chez les rats empêchait certaines modifications du cortex visuel observées normalement chez les rats élevés à l'obscurité. Par exemple, chez les animaux élevés à l'obscurité, l'acuité visuelle est inférieure à la normale (Berardi *et al.*, 2003). Chez les rats 60 jours élevés à l'obscurité dans un milieu enrichi, l'acuité visuelle est normale ($1,03 \pm 0,02$ cycle par degré), contrairement à celle des animaux élevés à l'obscurité dans un milieu standard, qui est nettement diminuée ($0,58 \pm 0,04$ cycle par degré) (Bartoletti *et al.*, 2004). Par ailleurs, l'élevage en milieu enrichi empêche aussi certaines modifications biochimiques qui surviennent chez les rats élevés à l'obscurité. Par exemple, l'expression de l'enzyme glutamate décarboxylase 65 (GAD65), responsable de la transformation du glutamate en acide- γ -aminobutyrique (GABA), le principal neurotransmetteur inhibiteur, est diminuée chez les rats élevés à l'obscurité en milieu standard, mais pas chez ceux élevés à l'obscurité en milieu enrichi (Bartoletti *et al.*, 2004). Nos résultats abondent aussi en ce sens puisque nous n'avons observé aucune modulation significative de l'expression des principales sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA ni de la synaptophysine et de PSD95 dans le cortex visuel de souris privées d'activité visuelle et élevées dans un milieu enrichi.

Ainsi, l'élevage en milieu enrichi pourrait permettre le développement normal du cortex visuel malgré l'absence d'activité visuelle. Une des explications proposées est que l'enrichissement environnemental favoriserait l'expression de certaines protéines permettant le développement cortical comme le "brain-derived neurotrophic factor" (BDNF). Cette hypothèse est particulièrement intéressante puisqu'il a été démontré que l'expression de cette protéine était diminuée chez les animaux élevés à l'obscurité (Cotrufo *et al.*, 2003) et que l'augmentation de son expression accélérerait la maturation du cortex visuel (Huang *et al.*, 1999; Cancedda *et al.*, 2004) et renverserait les effets de l'élevage à l'obscurité (Berardi *et al.*, 2003; Gianfranceschi *et al.*, 2003). Par ailleurs, il a aussi déjà été démontré que l'enrichissement environnemental favorise l'expression du BDNF, dans l'hippocampe (Pham *et al.*, 2002) et dans le tronc cérébral (Ickes *et al.*, 2000), mais aussi dans le cortex visuel (Cancedda *et al.*, 2004) chez les animaux voyants. Il n'existe toutefois pas d'étude démontrant une augmentation de l'expression de cette protéine dans le cortex visuel d'animaux aveugles élevés en milieu enrichi.

Il est donc possible que l'élevage en milieu enrichi favorise l'expression de certaines protéines impliquées dans le développement du cortex visuel comme le BDNF chez les animaux privés d'activité visuelle, ce qui pourrait expliquer les résultats que nous avons obtenus dans ce cortex puisque l'expression des sous-unités des récepteurs NMDA (Caldeira *et al.*, 2007b) et AMPA (Caldeira *et al.*, 2007a; Jourdi et Kabbaj, 2013) est favorisée en présence de BDNF. Malheureusement, le manque de détails concernant les conditions d'élevage dans les études ayant rapporté des modifications de l'expression des sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA chez les animaux privés visuellement ainsi que l'absence d'étude concernant le niveau d'expression du BDNF dans le cortex visuel de ces animaux nous empêche de pouvoir affirmer hors de tout doute que les résultats que nous avons obtenus résultent du type de milieu d'élevage que nous avons utilisé et soient en lien avec le niveau d'expression du BDNF. Il s'agit tout de même d'une explication plausible qui devrait être vérifiée lors de recherches futures.

4.4.4 Effet du contrôle utilisé

L'analyse de l'expression de protéines par immunobuvardage Western est semi-quantitative puisque le résultat obtenu est une valeur comparative entre le niveau d'expression d'une protéine dans un échantillon par rapport à un échantillon contrôle. Afin d'obtenir des résultats reproductibles, on doit donc s'assurer que l'expression de la protéine étudiée ne varie pas dans notre échantillon contrôle.

Pour notre étude, une attention particulière a dû être portée à cet aspect puisque nous voulions évaluer l'effet de l'activité visuelle sur l'expression de certaines protéines chez des souris aveugles en utilisant des souris voyantes comme groupe contrôle. Étant donné les études qui ont démontré que l'exposition à la lumière pouvait entraîner une modification rapide de l'expression des différentes sous-unités des récepteurs AMPA (Goel *et al.*, 2006) et NMDA (Quinlan *et al.*, 1999) dans les heures ou les jours suivants l'exposition à la lumière dans le cortex visuel de rats élevés à l'obscurité, on pourrait effectivement croire que l'heure à laquelle les souris ont été sacrifiées était importante puisque le niveau d'expression chez les souris contrôle voyante aurait pu être différent le

matin, suite à une période d'obscurité de 10 heures, ou le soir, après une période d'exposition à la lumière de 14 heures. Ainsi, il serait possible que l'expression de ces protéines soit modifiée dans les cortex sensoriels des animaux que nous avons utilisés comme contrôle, ce qui pourrait expliquer la variabilité des résultats que nous avons obtenus.

Toutefois, nous jugeons qu'il est peu probable que l'heure à laquelle nous avons sacrifié nos animaux contrôles ait pu affecter le niveau d'expression des protéines que nous avons étudiées. D'abord, les animaux utilisés au cours de nos expériences ont tous été sacrifiés après un minimum de 3 heures et un maximum de 6 heures d'exposition à la lumière. En effet, bien que nous n'ayons pas contrôlé rigoureusement l'heure à laquelle les sacrifices ont été effectués, la très grande majorité des animaux ont été sacrifiés environ aux mêmes heures puisque la séquence selon laquelle nous avons extrait les cortex était toujours la même. Les souris étaient transportées de l'animalerie au laboratoire dès notre arrivée le matin, puis, le temps qu'elles s'acclimatent au laboratoire et qu'elles se remettent du stress du déplacement, nous préparions les différents tampons utilisés pour l'extraction des cortex, ainsi que les instruments nécessaires pour l'extraction. Ainsi, les extractions des cortex débutaient normalement vers 10 heures et elles étaient faites les unes à la suite des autres, aussi rapidement que possible. Ainsi, seuls quelques individus, issus de larges portées, ont été sacrifiés légèrement plus tardivement, lorsque nous avions beaucoup de cortex à extraire la même journée. Par ailleurs, nous avons utilisé des animaux adultes, dont le cerveau est donc moins plastique et moins susceptible d'être modifié rapidement, alors que les observations démontrant des modifications rapides chez les animaux élevés à l'obscurité ont été faites sur des rats âgés de 21 à 28 jours (Quinlan *et al.*, 1999), soit pendant la période maximale de plasticité du cortex visuel (Gordon et Stryker, 1996). Finalement, il a été démontré que chez des animaux élevés dans des conditions normales, l'élevage dans des conditions sans lumière pendant 24 heures n'est pas suffisante pour modifier l'expression de la sous-unité NR2A (Quinlan *et al.*, 1999) et les modifications de l'expression des sous-unités des récepteurs AMPA chez les animaux privés d'activité

visuelle par l'élevage à l'obscurité n'ont été constatées qu'après cinq jours de privation visuelle (Goel *et al.*, 2006).

Nous avons tout de même procédé à certaines vérifications afin de nous assurer qu'aucun biais systématique n'ait été introduit par l'utilisation de souris contrôles voyantes qui auraient été exposées à des périodes variables d'illumination avant leur sacrifice et que cela ait entraîné des modifications de l'expression des protéines que nous avons étudiées. L'ensemble des résultats obtenus a donc été recalculé en utilisant d'abord les souris énucléées (Annexe A), puis les souris anophtalmes (Annexe B) comme contrôle. Les résultats ainsi obtenus n'ont pas démontré de modification significative de l'expression d'aucune des protéines étudiées entre les différents groupes expérimentaux lorsqu'on utilisait l'un ou l'autre de ces modèles de souris aveugles, et la variabilité entre les différents réplicas n'a pas été diminuée. Il semble donc peu probable que le niveau d'expression relative de ces protéines ait pu être modifié entre nos différents modèles animaux en fonction du nombre d'heures de luminosité auquel nos souris contrôles ont été exposées dans les heures précédant l'extraction des cortex sensoriels.

4.4.5 Effet de la fraction biochimique étudiée

Dans le cadre de notre étude, les protéines étudiées provenaient du surnageant postnucléaire. Cette fraction biochimique est obtenue en homogénéisant le cortex dans un tampon de lyse, puis en centrifugeant cet homogénat à faible vitesse afin de faire précipiter les débris cellulaires ainsi que les noyaux (Okotore, 1998). Cette fraction contient donc l'ensemble des protéines tant membranaires que cytosolaires. Il s'agit d'une distinction importante de notre étude puisque beaucoup d'études jusqu'à présent s'étaient intéressées à la modulation par l'activité de l'expression des sous-unités des récepteurs glutamatergiques présents spécifiquement à la synapse centrale. En effet, plusieurs études ont, par exemple, suggéré des modifications de la quantité ou de la composition de ces récepteurs en se basant sur des données électrophysiologiques (Carmignoto et Vicini, 1992; O'Brien *et al.*, 1998; Turrigiano *et al.*, 1998; Nase *et al.*,

1999; Desai *et al.*, 2002), lesquelles ne permettent que de mettre en évidence les changements des récepteurs incorporés dans la membrane cytoplasmique. D'autres études ont aussi démontré des changements biochimiques grâce à des données obtenues par immunobuvardage de type Western, mais la très grande majorité de ces études ont utilisées protéines provenant de synaptoneurosomes (Chen *et al.*, 2000; Yashiro *et al.*, 2005; Goel *et al.*, 2006; Chen et Bear, 2007), soit une fraction biochimique contenant une portion de la partie présynaptique de la synapse, le synaptosome, attachée avec une portion de la partie postsynaptique de la synapse, le neurosome (Villasana *et al.*, 2006). L'avantage d'utiliser cette fraction biochimique est qu'elle contient une plus grande concentration de récepteurs et de protéines localisées directement à la synapse, ce qui facilite leur détection lorsque la technique utilisée n'est pas suffisamment sensible. Par contre cette fraction ne contient pas les récepteurs situés loin de la jonction synaptique ni ceux en circulation dans le cytoplasme. Ainsi, les résultats obtenus lors de l'analyse de la fraction synaptoneurosomale ne permettent pas de constater si l'activité visuelle ou son absence modifie l'expression totale des protéines, mais seulement la modulation de la quantité de protéines insérées à la synapse centrale.

La fraction contenant les synaptoneurosomes est obtenue en utilisant des protocoles de centrifugation différentielle (Cohen *et al.*, 1977; Carlin *et al.*, 1980; Cho *et al.*, 1992; Westmark *et al.*, 2011) ou par filtration (Villasana *et al.*, 2006), ce qui nécessite une quantité importante de matériel de départ ainsi que l'accès à certains types d'appareils. Or, puisque nous avons utilisé la souris comme modèle animal, la quantité de tissus provenant des cortex sensoriels était assez limitée, et les appareils à notre disposition ne nous permettaient pas d'avoir un excellent rendement lors de l'isolation des synaptoneurosomes, ce qui impose une certaine contrainte expérimentale.

Par ailleurs, les résultats rapportés dans une étude récente nous permettaient de croire qu'une modulation plus évidente de l'expression de ces protéines pourrait être observée dans la fraction contenant le surnageant postnucléaire que dans celle contenant les synaptoneurosomes (Yashiro *et al.*, 2005). Cette étude a tiré profit de la possibilité d'isoler spécifiquement les densités postsynaptiques, soit la portion postsynaptique de la

synapse centrale, afin de mettre en évidence des changements spécifiques de la composition des récepteurs NMDA situés au niveau pérисynaptique et extrasynaptique, c'est-à-dire en périphérie ou à l'extérieur de la membrane synaptique, chez les rats privés d'activité visuelle durant une courte période à l'âge adulte. Pour ce faire, le niveau d'expression des sous-unités NR2A et NR2B a été comparé dans différentes fractions biochimiques, soit le surnageant post-nucléaire, la membrane synaptique lysée et la densité postsynaptique, entre des rats voyants et des rats élevés à l'obscurité. Les résultats obtenus ont mis en évidence une différence dans l'expression de ces sous-unités entre les rats voyants et ceux élevés à l'obscurité dans la fraction contenant le surnageant postnucléaire ainsi que dans la fraction contenant la membrane synaptique, qui est semblable au synaptoneurosome en terme de composition biochimique, mais il n'y avait aucune différence d'expression entre ces deux groupes dans la fraction enrichie en densités postsynaptiques. Cela permet de conclure que seule la composition des récepteurs qui ne sont pas situés à la synapse centrale est modifiée. Cette étude suggère donc que, chez les rats adultes, les modifications engendrées par la perte de vision affecteraient principalement la composition des récepteurs situés au niveau pérисynaptique et extrasynaptique.

Des changements de l'expression des récepteurs situés à ces localisations subcellulaires auraient donc pu être observés dans la fraction contenant le surnageant post-nucléaire, et ce, de manière plus prononcée que si l'on avait utilisé des synaptoneurosomes puisque, tel que spécifié, les protéines localisées loin de la jonction synaptique, soit une partie des protéines situées au niveau pérисynaptique, ainsi que les protéines en circulation dans la cellule, soit les protéines situées au niveau extrasynaptique, ne se retrouvent pas dans la fraction synaptoneurosomale. Cette fraction pouvait peut-être permettre de mettre en évidence des modulations de l'expression des sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA dans d'autres études chez des animaux plus jeunes, car chez les jeunes rongeurs, il a été observé que l'expression des sous-unités des récepteurs NMDA est aussi modifiée au niveau de la densité postsynaptique (Yashiro *et al.*, 2005), mais cette dernière étude nous permettait de croire

que chez les souris adultes, les modifications affecteraient davantage les récepteurs localisés au niveau pérисynaptique et extrasynaptique.

D'autre part, l'utilisation de la fraction synaptoneurosomale aurait pu introduire un biais lors de la mesure de l'expression des protéines synaptophysine et PSD95. En effet, la synaptophysine est localisée au niveau présynaptique, et le synaptoneurosome ne contient qu'une portion de la partie présynaptique de la synapse, dont la taille dépend des facteurs expérimentaux dans lesquels le fractionnement subcellulaire est réalisé (Villasana *et al.*, 2006). Cette portion n'est donc pas définie exactement ni tout à fait reproductible, alors les résultats obtenus auraient été variables si l'on avait utilisé cette fraction pour comparer l'expression de la synaptophysine entre les différents modèles animaux. La protéine PSD95, elle, est ancrée sur la membrane par son interaction avec le domaine PDZ des sous-unités des récepteurs NMDA ou de certaines protéines membranaires (Kornau *et al.*, 1995b; Kornau *et al.*, 1997; Chetkovich *et al.*, 2002; Beique *et al.*, 2006). Or, bien que cette liaison puisse être assez forte, elle aurait pu être brisée par les différentes centrifugations différentielles et donc affecter la reproductibilité et l'exactitude de nos mesures du niveau d'expression de PSD95. Ainsi, considérant ces facteurs et puisque nous sommes parvenus à obtenir un signal d'une bonne intensité sans avoir à utiliser une fraction enrichie en protéine synaptiques comme la fraction synaptoneurosomale, nous avons jugés préférable d'utiliser la fraction contenant le surnageant postnucléaire.

Le niveau d'expression des protéines synaptiques peut donc varier selon la fraction biochimique étudiée. Cette distinction entre notre étude et la majorité des études présentées dans la littérature est donc importante puisqu'il est possible que l'absence d'activité visuelle modifie différemment la composition des récepteurs situés dans la portion centrale de la synapse et ceux situés en périphérie. Par exemple, on pourrait retrouver chez les animaux aveugles plus de récepteurs NMDA formés de la sous-unité NR2B et de récepteurs AMPA formés de la sous-unité GluR1 dans la portion centrale de la synapse, et plus de récepteurs NMDA formés de la sous-unité NR2A et de récepteurs AMPA formée de la sous-unité GluR2 en périphérie ou en circulation dans le cytosol.

Ainsi, l'analyse de l'expression de ces sous-unités montrerait des modifications dans une fraction enrichie en synaptoneurosomes, mais aucune différence dans la fraction contenant le surnageant postnucléaire.

CHAPITRE V

CONCLUSION

Chez les aveugles, l'absence d'activité visuelle pendant le développement entraîne d'importantes modifications fonctionnelles des différents cortex sensoriels, qui font en sorte que les individus adultes aveugles depuis la naissance performant généralement mieux que les individus voyants dans les tâches non visuelles. L'amélioration des capacités auditives et tactiles des individus aveugles précoces pourrait résulter de changements des connexions à l'intérieur ou entre les différents cortex sensoriels primaires. Les travaux de notre laboratoire tentent de déterminer les modifications des cortex sensoriels chez les aveugles qui pourraient expliquer les capacités accrues des aveugles dans les tâches de discrimination tactile et auditive. Les travaux effectués dans le cadre de cette maîtrise ont permis de développer de nouveaux protocoles qui pourront être utilisés dans le futur dans notre laboratoire et ont apporté de nouvelles connaissances concernant les modifications biochimiques des synapses dans les différents cortex sensoriels primaires chez les souris adultes privées d'activité visuelle tout au long de leur développement.

5.1 Contribution à l'avancement des connaissances et perspectives

Les résultats obtenus lors de ces travaux apportent de nouvelles informations qui permettent de mieux comprendre le rôle de l'activité visuelle sur la composition biochimique des synapses dans les différents cortex sensoriels. Les études menées jusqu'à maintenant avaient démontré qu'une brève perte d'activité visuelle et que l'absence d'activité visuelle pendant la période critique de plasticité modifient la composition des récepteurs AMPA et NMDA dans le cortex visuel et une seule étude avait démontré que cela modifiait l'expression de certaines protéines synaptiques, soit les sous-unités des récepteurs AMPA, dans les cortex auditif et somatosensoriel (Goel *et*

al., 2006). Il n'existait toutefois pas, avant nos travaux, d'étude sur l'effet de l'absence totale d'activité visuelle tout au long du développement sur l'expression des protéines synaptiques dans les différents cortex sensoriels primaires de souris. Contrairement aux résultats auxquels nous nous attendions, nos résultats ont démontré que l'expression des principales sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA du glutamate dans le néocortex, GluR1, GluR2, NR2A et NR2B, n'est pas modifiée dans les différents cortex sensoriels primaires chez les souris adultes dépourvues d'activité rétinienne depuis un stade précoce de développement. Nous avons aussi démontré que l'expression de deux protéines majeures, la Synaptophysine et PSD95 n'est pas modifiée chez ces souris.

Ces résultats suggèrent que le type de privation visuelle ainsi que sa durée pourraient avoir un impact considérable sur les modifications de la composition synaptique dans les différents cortex sensoriels. Nos résultats apportent donc de nouvelles connaissances fondamentales sur la régulation par l'expérience sensorielle de l'expression de différentes protéines nécessaires à la transmission synaptique dans le néocortex et ouvrent la voie vers de nouvelles recherches permettant de préciser quels sont les facteurs responsables de la modulation de l'expression de ces protéines au cours du développement et particulièrement durant la période critique de plasticité, au moment où les circuits neuronaux responsables de la transmission de l'information sensorielle se raffinent.

Ainsi, plusieurs projets intéressants pourraient naître des suites de ce projet. Dans un premier lieu, il serait intéressant d'aller vérifier l'expression de ces protéines chez nos modèles animaux au moment de la période critique, ce qui pourrait nous indiquer, en comparant avec les résultats présentés dans la littérature pour les souris élevées à l'obscurité, si les modifications de la biochimie corticale dépendent du type de privation visuelle. Nous avons aussi déjà prévu de comparer l'expression de ces protéines chez les souris aveugles et voyantes à différents stades développementaux, soit peu de temps après l'ouverture des yeux, au moment de la période critique de plasticité du cortex visuel et à une période intermédiaire entre la fin de la période critique et l'âge adulte, afin de voir si l'activité visuelle modifie la trajectoire développementale de l'expression

de ces protéines, comme ce qui a été observé chez les chats privés de vision d'un œil. Il faudrait aussi tester si l'environnement, enrichi ou non, dans lequel les animaux sont élevés pourrait avoir un impact sur la modulation de l'expression de ces protéines. Finalement, puisque le niveau d'activité cortical dépend d'un équilibre entre l'activité synaptique excitatrice et l'activité synaptique inhibitrice, il serait important de vérifier si l'expression des protéines responsables de cette dernière est modifiée dans les différents cortex sensoriels d'animaux adultes aveugles depuis la naissance ou si elle demeure inchangée comme ce que nous avons observé pour les sous-unités des récepteurs AMPA et NMDA.

Afin de vérifier cette dernière hypothèse, j'ai supervisé un stagiaire dans la réalisation de travaux visant à déterminer si l'expression des sous-unités des récepteurs sensible à l'acide γ -aminobutyrique (GABA), soit les principaux récepteurs responsables de l'activité inhibitrice dans le néocortex des mammifères, est altéré chez nos modèles de souris. Les résultats préliminaires obtenus jusqu'à présent ne démontrent pas non plus de modulation significative de l'expression de ces protéines chez les souris adultes aveugles depuis la naissance par rapport aux souris contrôle. Par ailleurs, d'autres travaux menés à notre laboratoire ont aussi démontré que l'expression des transporteurs vésiculaires du glutamate et du GABA, des protéines présynaptiques responsables de l'incorporation des principaux neurotransmetteurs excitateurs et inhibiteurs dans le néocortex, n'était pas modulée par la perte d'activité visuelle totale et prolongée chez les souris. Mis tout ensemble, ces résultats démontrent que le niveau d'expression d'une douzaine de protéines importantes pour la transmission synaptique n'est pas modulé dans les cortex visuel, auditif et somatosensoriel primaires de souris adultes suite à une perte totale et prolongée d'activité visuelle.

Les résultats obtenus dans le cadre de ces travaux apportent des informations fondamentales sur le rôle de l'expérience sensorielle dans le développement cortical. Ils sont d'une grande importance puisqu'une meilleure connaissance des modifications de la circuiterie corticale suite à la perte de la vision pourrait permettre de mieux comprendre les limites de la récupération fonctionnelle qu'il serait possible d'atteindre

chez les aveugles et pourrait éventuellement permettre de favoriser l'implantation de prothèses visuelle chez ces individus. En effet, on sait déjà que les chances de succès lors de l'implantation des prothèses sensorielles, comme les implants cochléaires, sont plus grandes chez les jeunes individus. La connaissance des modifications moléculaires qui surviennent pendant la période critique et qui la régulent pourrait éventuellement nous permettre de manipuler pharmacologiquement la plasticité du néocortex au cours du développement ou chez l'adulte, de manière à favoriser l'implantation de ces prothèses. Ces connaissances seraient d'autant plus importantes pour les individus aveugles puisque les prothèses développées jusqu'à maintenant se révèlent peu efficaces. Bien entendu, les modifications biochimiques observées chez les souris ne peuvent pas nécessairement se transposer directement chez l'humain, mais la souris demeure un excellent modèle pour étudier les mécanismes fondamentaux de la plasticité fondamentale, en particulier à cause de la connaissance approfondie que nous avons de son génome et la facilité avec laquelle on peut générer des mutants afin d'aller vérifier l'impact spécifique d'une protéine.

5.2 Contribution au laboratoire

Jusqu'à maintenant, les études menées au laboratoire concernaient principalement les modifications anatomiques qui surviennent chez la souris suite à la perte de vision. Avec ce projet, nous avons abordé le problème sous un autre angle, en vérifiant les modifications de la composition biochimique des synapses dans les différents cortex sensoriels primaires de souris aveugles. Ainsi, la réalisation de ce projet a nécessité une importante mise au point puisqu'aucun des appareils ni aucune des techniques requises n'était disponible au laboratoire à mon arrivée. J'ai donc grandement contribué à mettre au point les différents protocoles utilisés pour le dosage des protéines, l'analyse semi-quantitative des protéines suite à l'électrophorèse sur gel de polyacrylamide en conditions dénaturantes, ainsi qu'à la mise au point pour l'utilisation des sept différents anticorps utilisés pour mes expériences en plus de celle pour trois autres anticorps utilisés par un stagiaire. J'ai aussi testé différentes méthodes d'analyse densitométrique avec différents logiciels afin de déterminer celle qui offrait la meilleure efficacité et la

moins grande variabilité et j'ai aussi supervisé deux stagiaires dans la réalisation d'expériences qui, conjointement aux résultats obtenus dans le cadre de mon projet, mèneront à la rédaction d'un article scientifique. Finalement, bien qu'il n'ait finalement pas servi pour les travaux présentés dans ce mémoire, j'ai mis au point un protocole permettant l'isolation de différentes fractions biochimiques à partir de cortex sensoriels.

En effet, afin de vérifier quelle population de récepteurs était modifiée chez les souris adultes aveugles depuis la naissance, nous avons envisagé d'utiliser une technique de fractionnement subcellulaire pour isoler spécifiquement la fraction contenant les densités postsynaptiques. La littérature présente plusieurs protocoles basés sur des centrifugations différentielles et utilisant des gradients de sucrose ou de percoll afin d'isoler spécifiquement la fraction biochimique contenant les densités postsynaptiques (Cotman *et al.*, 1974; Carlin *et al.*, 1980; Cho *et al.*, 1992; Hahn *et al.*, 2009), mais le rendement de ces techniques est limité et donc, ces protocoles nécessitent généralement une grande quantité de tissus au départ. La technique a donc dû être adaptée afin d'être en mesure d'isoler les densités postsynaptiques en utilisant une petite quantité de tissus avec les appareils disponibles. Nous avons réussi à obtenir une fraction très enrichie en densités postsynaptiques (Figure 5.1). Par contre, puisque le pourcentage d'enrichissement de la fraction contenant les densités postsynaptiques variait considérablement d'une expérience à l'autre et que le protocole était très long et coûteux étant donné le matériel nécessaire ainsi que l'importante quantité d'animaux à utiliser, soit 5 souris par expérience, cette partie du projet a dû être abandonnée. Toutefois, nous disposons maintenant d'un protocole de fractionnement subcellulaire totalement mis au point et permettant d'isoler spécifiquement des fractions biochimiques fortement enrichies en densités postsynaptiques, mais aussi les synaptoneurosomes, la fraction présynaptique et même les vésicules synaptiques. Ce protocole pourra être utilisé au besoin dans le laboratoire pour des expériences futures.

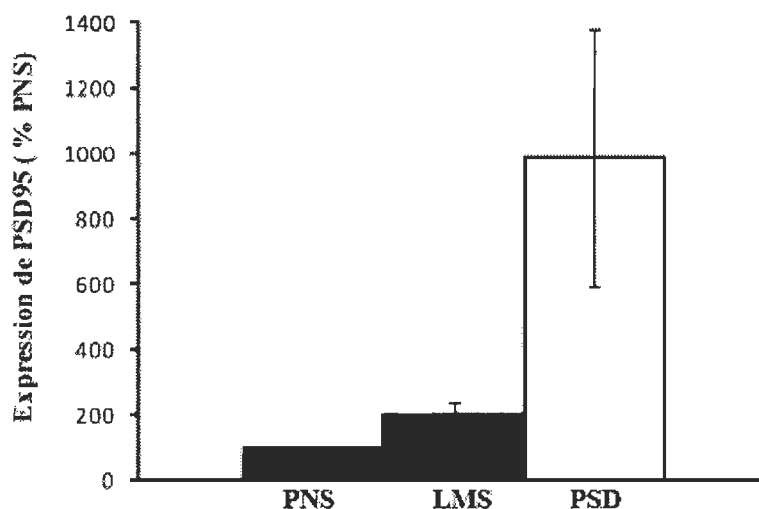


Figure 5.1 Résultats du fractionnement subcellulaire.

L'enrichissement des densités postsynaptiques obtenu grâce à notre protocole de fractionnement subcellulaire a été évalué dans les fractions biochimiques contenant le surnageant postnucléaire (PNS), les membranes synaptiques lysées (LSM) et la fraction enrichie en densités postsynaptiques (PSD) en mesurant l'expression de la protéine PSD95, très abondante et exclusivement localisée dans la densité postsynaptique ($n = 3$). Les résultats obtenus montrent un enrichissement important, mais très variable en densité postsynaptique dans la fraction PSD par rapport au PNS.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abraham WC, Bear MF (1996) Metaplasticity: the plasticity of synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 19:126-130.

Adams B, Fitch T, Chaney S, Gerlai R (2002) Altered performance characteristics in cognitive tasks: comparison of the albino ICR and CD1 mouse strains. *Behav Brain Res* 133:351-361.

Al-Hallaq RA, Conrads TP, Veenstra TD, Wenthold RJ (2007) NMDA di-heteromeric receptor populations and associated proteins in rat hippocampus. *J Neurosci* 27:8334-8343.

Alder J, Kanki H, Valtorta F, Greengard P, Poo MM (1995) Overexpression of synaptophysin enhances neurotransmitter secretion at *Xenopus* neuromuscular synapses. *J Neurosci* 15:511-519.

Aldridge GM, Podrebarac DM, Greenough WT, Weiler IJ (2008) The use of total protein stains as loading controls: an alternative to high-abundance single-protein controls in semi-quantitative immunoblotting. *J Neurosci Methods* 172:250-254.

Alegria-Schaffer A, Lodge A, Vattam K (2009) Performing and optimizing Western blots with an emphasis on chemiluminescent detection. *Methods Enzymol* 463:573-599.

Ambati J, Ambati BK, Yoo SH, Ianchulev S, Adamis AP (2003) Age-related macular degeneration: etiology, pathogenesis, and therapeutic strategies. *Surv Ophthalmol* 48:257-293.

Antonini A, Fagiolini M, Stryker MP (1999) Anatomical correlates of functional plasticity in mouse visual cortex. *J Neurosci* 19:4388-4406.

Aramakis VB, Hsieh CY, Leslie FM, Metherate R (2000) A critical period for nicotine-induced disruption of synaptic development in rat auditory cortex. *J Neurosci* 20:6106-6116.

Auladell C, Perez-Sust P, Super H, Soriano E (2000) The early development of thalamocortical and corticothalamic projections in the mouse. *Anat Embryol (Berl)* 201:169-179.

Balkema GW, Drager UC (1991) Impaired visual thresholds in hypopigmented animals. *Vis Neurosci* 6:577-585.

Barkat TR, Polley DB, Hensch TK (2011) A critical period for auditory thalamocortical connectivity. *Nat Neurosci* 14:1189-1194.

Bartoletti A, Medini P, Berardi N, Maffei L (2004) Environmental enrichment prevents effects of dark-rearing in the rat visual cortex. *Nat Neurosci* 7:215-216.

Battey J, Jordan E, Cox D, Dove W (1999) An action plan for mouse genomics. *Nat Genet* 21:73-75.

Bavelier D, Neville HJ (2002) Cross-modal plasticity: where and how? *Nat Rev Neurosci* 3:443-452.

Bayes A, Collins MO, Croning MD, van de Lagemaat LN, Choudhary JS, Grant SG (2012) Comparative study of human and mouse postsynaptic proteomes finds high compositional conservation and abundance differences for key synaptic proteins. *PLoS One* 7:e46683.

Bayes A, Grant SG (2009) Neuroproteomics: understanding the molecular organization and complexity of the brain. *Nat Rev Neurosci* 10:635-646.

Bear MF, Kleinschmidt A, Gu QA, Singer W (1990) Disruption of experience-dependent synaptic modifications in striate cortex by infusion of an NMDA receptor antagonist. *J Neurosci* 10:909-925.

Bear MF, Malenka RC (1994) Synaptic plasticity: LTP and LTD. *Curr Opin Neurobiol* 4:389-399.

Bear MF, Connors BW, Paradiso MA (2000) *Neuroscience: Exploring the Brain* second edition. Baltimore, Maryland, USA: Lippincott Williams and Wilkins.

Beck JA, Lloyd S, Hafezparast M, Lennon-Pierce M, Eppig JT, Festing MF, Fisher EM (2000) Genealogies of mouse inbred strains. *Nat Genet* 24:23-25.

Beer AL, Plank T, Greenlee MW (2011) Diffusion tensor imaging shows white matter tracts between human auditory and visual cortex. *Exp Brain Res* 213:299-308.

Beique JC, Lin DT, Kang MG, Aizawa H, Takamiya K, Huganir RL (2006) Synapse-specific regulation of AMPA receptor function by PSD-95. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:19535-19540.

Bellone C, Nicoll RA (2007) Rapid bidirectional switching of synaptic NMDA receptors. *Neuron* 55:779-785.

Bengoetxea H, Ortuzar N, Bulnes S, Rico-Barrio I, Lafuente JV, Argandona EG (2012) Enriched and deprived sensory experience induces structural changes and rewires connectivity during the postnatal development of the brain. *Neural Plast* 2012:305693.

Berardi N, Pizzorusso T, Maffei L (2000) Critical periods during sensory development. *Curr Opin Neurobiol* 10:138-145.

Berardi N, Pizzorusso T, Ratto GM, Maffei L (2003) Molecular basis of plasticity in the visual cortex. *Trends Neurosci* 26:369-378.

Beston BR, Jones DG, Murphy KM (2010) Experience-dependent changes in excitatory and inhibitory receptor subunit expression in visual cortex. *Front Synaptic Neurosci* 2:138.

Bizley JK, Nodal FR, Bajo VM, Nelken I, King AJ (2007) Physiological and anatomical evidence for multisensory interactions in auditory cortex. *Cereb Cortex* 17:2172-2189.

Blake R, Sekuler R (2006) *Perception*. New York: McGraw-Hill Education.

Bliss TV, Lomo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232:331-356.

Bonetti C, Surace EM (2010) Mouse embryonic retina delivers information controlling cortical neurogenesis. *PLoS One* 5:e15211.

Borges K, Dingledine R (1998) AMPA receptors: molecular and functional diversity. *Prog Brain Res* 116:153-170.

Borra E, Rockland KS (2011) Projections to early visual areas v1 and v2 in the calcarine fissure from parietal association areas in the macaque. *Front Neuroanat* 5:35.

Bronchti G, Heil P, Sadka R, Hess A, Scheich H, Wollberg Z (2002) Auditory activation of "visual" cortical areas in the blind mole rat (*Spalax ehrenbergi*). *Eur J Neurosci* 16:311-329.

Bronchti G, Schonenberger N, Welker E, Van der Loos H (1992) Barreldfield expansion after neonatal eye removal in mice. *Neuroreport* 3:489-492.

Bryant CD (2011) The blessings and curses of C57BL/6 substrains in mouse genetic studies. *Ann N Y Acad Sci* 1245:31-33.

Budinger E, Heil P, Hess A, Scheich H (2006) Multisensory processing via early cortical stages: Connections of the primary auditory cortical field with other sensory systems. *Neuroscience* 143:1065-1083.

Butts DA, Kanold PO, Shatz CJ (2007) A burst-based "Hebbian" learning rule at retinogeniculate synapses links retinal waves to activity-dependent refinement. *PLoS Biol* 5:e61.

Butts DA, Rokhsar DS (2001) The information content of spontaneous retinal waves. *J Neurosci* 21:961-973.

Cajigas JJ, Will T, Schuman EM (2010) Protein homeostasis and synaptic plasticity. *EMBO J* 29:2746-2752.

Caldeira MV, Melo CV, Pereira DB, Carvalho R, Correia SS, Backos DS, Carvalho AL, Esteban JA, Duarte CB (2007a) Brain-derived neurotrophic factor regulates the expression and synaptic delivery of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionic acid receptor subunits in hippocampal neurons. *J Biol Chem* 282:12619-12628.

Caldeira MV, Melo CV, Pereira DB, Carvalho RF, Carvalho AL, Duarte CB (2007b) BDNF regulates the expression and traffic of NMDA receptors in cultured hippocampal neurons. *Mol Cell Neurosci* 35:208-219.

Calhoun ME, Jucker M, Martin LJ, Thinakaran G, Price DL, Mouton PR (1996) Comparative evaluation of synaptophysin-based methods for quantification of synapses. *J Neurocytol* 25:821-828.

Calkins MJ, Manczak M, Mao P, Shirendeb U, Reddy PH (2011) Impaired mitochondrial biogenesis, defective axonal transport of mitochondria, abnormal mitochondrial dynamics and synaptic degeneration in a mouse model of Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet* 20:4515-4529.

Callaway EM, Katz LC (1991) Effects of binocular deprivation on the development of clustered horizontal connections in cat striate cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88:745-749.

Campi KL, Bales KL, Grunewald R, Krubitzer L (2010) Connections of auditory and visual cortex in the prairie vole (*Microtus ochrogaster*): evidence for multisensory processing in primary sensory areas. *Cereb Cortex* 20:89-108.

Cancedda L, Putignano E, Sale A, Viegi A, Berardi N, Maffei L (2004) Acceleration of visual system development by environmental enrichment. *J Neurosci* 24:4840-4848.

Cang J, Renteria RC, Kaneko M, Liu X, Copenhagen DR, Stryker MP (2005) Development of precise maps in visual cortex requires patterned spontaneous activity in the retina. *Neuron* 48:797-809.

Carlin RK, Grab DJ, Cohen RS, Siekevitz P (1980) Isolation and characterization of postsynaptic densities from various brain regions: enrichment of different types of postsynaptic densities. *J Cell Biol* 86:831-845.

Carmignoto G, Vicini S (1992) Activity-dependent decrease in NMDA receptor responses during development of the visual cortex. *Science* 258:1007-1011.

Castren E, Zafra F, Thoenen H, Lindholm D (1992) Light regulates expression of brain-derived neurotrophic factor mRNA in rat visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:9444-9448.

Chabot N, Charbonneau V, Laramée ME, Tremblay R, Boire D, Bronchti G (2008) Subcortical auditory input to the primary visual cortex in anophthalmic mice. *Neurosci Lett* 433:129-134.

Chabot N, Robert S, Tremblay R, Miceli D, Boire D, Bronchti G (2007) Audition differently activates the visual system in neonatally enucleated mice compared with anophthalmic mutants. *Eur J Neurosci* 26:2334-2348.

Chakrabarti L, Galdzicki Z, Haydar TF (2007) Defects in embryonic neurogenesis and initial synapse formation in the forebrain of the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *J Neurosci* 27:11483-11495.

Chang B, Smith RS, Hawes NL, Anderson MG, Zabaleta A, Savinova O, Roderick TH, Heckenlively JR, Davisson MT, John SW (1999) Interacting loci cause severe iris atrophy and glaucoma in DBA/2J mice. *Nat Genet* 21:405-409.

Chapman B, Stryker MP (1993) Development of orientation selectivity in ferret visual cortex and effects of deprivation. *J Neurosci* 13:5251-5262.

Charbonneau V, Laramée ME, Boucher V, Bronchti G, Boire D (2012) Cortical and subcortical projections to primary visual cortex in anophthalmic, enucleated and sighted mice. *Eur J Neurosci* 36:2949-2963.

Chase HB (1944) Studies on an Anophthalmic Strain of Mice. IV. a Second Major Gene for Anophthalmia. *Genetics* 29:264-269.

Chase HB, Chase EB (1941) Studies on an anophthalmic strain of mice. I. Embryology of the eye region. *J Morphol* 68:279-401.

Chase H (1942) Studies on an anophthalmic strain of mice. III. Results of crosses with other strains. *Genetics* 27:339-348.

Chen L, Cooper NG, Mower GD (2000) Developmental changes in the expression of NMDA receptor subunits (NR1, NR2A, NR2B) in the cat visual cortex and the effects of dark rearing. *Brain Res Mol Brain Res* 78:196-200.

Chen WS, Bear MF (2007) Activity-dependent regulation of NR2B translation contributes to metaplasticity in mouse visual cortex. *Neuropharmacology* 52:200-214.

Chetkovich DM, Bunn RC, Kuo SH, Kawasaki Y, Kohwi M, Bredt DS (2002) Postsynaptic targeting of alternative postsynaptic density-95 isoforms by distinct mechanisms. *J Neurosci* 22:6415-6425.

Chiu C, Weliky M (2001) Spontaneous activity in developing ferret visual cortex in vivo. *J Neurosci* 21:8906-8914.

Cho KO, Hunt CA, Kennedy MB (1992) The rat brain postsynaptic density fraction contains a homolog of the *Drosophila* discs-large tumor suppressor protein. *Neuron* 9:929-942.

Citri A, Malenka RC (2008) Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. *Neuropsychopharmacology* 33:18-41.

Clancy B, Darlington RB, Finlay BL (2001) Translating developmental time across mammalian species. *Neuroscience* 105:7-17.

Cohen LG, Celnik P, Pascual-Leone A, Corwell B, Falz L, Dambrosia J, Honda M, Sadato N, Gerloff C, Catala MD, Hallett M (1997) Functional relevance of cross-modal plasticity in blind humans. *Nature* 389:180-183.

Cohen RS, Blomberg F, Berzins K, Siekevitz P (1977) The structure of postsynaptic densities isolated from dog cerebral cortex. I. Overall morphology and protein composition. *J Cell Biol* 74:181-203.

Collingridge GL, Kehl SJ, McLennan H (1983) Excitatory amino acids in synaptic transmission in the Schaffer collateral-commissural pathway of the rat hippocampus. *J Physiol* 334:33-46.

Corson J, Nahmani M, Lubarsky K, Badr N, Wright C, Erisir A (2009) Sensory activity differentially modulates N-methyl-D-aspartate receptor subunits 2A and 2B in cortical layers. *Neuroscience* 163:920-932.

Cotman CW, Banker G, Churchill L, Taylor D (1974) Isolation of postsynaptic densities from rat brain. *J Cell Biol* 63:441-455.

Cotrufo T, Viegi A, Berardi N, Bozzi Y, Mascia L, Maffei L (2003) Effects of neurotrophins on synaptic protein expression in the visual cortex of dark-reared rats. *J Neurosci* 23:3566-3571.

Craig AM, Blackstone CD, Huganir RL, Banker G (1993) The distribution of glutamate receptors in cultured rat hippocampal neurons: postsynaptic clustering of AMPA-selective subunits. *Neuron* 10:1055-1068.

Crair MC, Gillespie DC, Stryker MP (1998) The role of visual experience in the development of columns in cat visual cortex. *Science* 279:566-570.

Cramer KS, Sur M (1995) Activity-dependent remodeling of connections in the mammalian visual system. *Curr Opin Neurobiol* 5:106-111.

Crozier RA, Wang Y, Liu CH, Bear MF (2007) Deprivation-induced synaptic depression by distinct mechanisms in different layers of mouse visual cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:1383-1388.

Cull-Candy SG, Leszkiewicz DN (2004) Role of distinct NMDA receptor subtypes at central synapses. *Sci STKE* 2004:re16.

Dan Y, Poo MM (2006) Spike timing-dependent plasticity: from synapse to perception. *Physiol Rev* 86:1033-1048.

Daw NW, Gordon B, Fox KD, Flavin HJ, Kirsch JD, Beaver CJ, Ji Q, Reid SN, Czepita D (1999) Injection of MK-801 affects ocular dominance shifts more than visual activity. *J Neurophysiol* 81:204-215.

Del Rio JA, Martinez A, Auladell C, Soriano E (2000) Developmental history of the subplate and developing white matter in the murine neocortex. Neuronal organization and relationship with the main afferent systems at embryonic and perinatal stages. *Cereb Cortex* 10:784-801.

Delint-Ramirez I, Fernandez E, Bayes A, Kicsi E, Komiyama NH, Grant SG (2010) In vivo composition of NMDA receptor signaling complexes differs between membrane subdomains and is modulated by PSD-95 and PSD-93. *J Neurosci* 30:8162-8170.

Demas J, Eglen SJ, Wong RO (2003) Developmental loss of synchronous spontaneous activity in the mouse retina is independent of visual experience. *J Neurosci* 23:2851-2860.

Derkach VA, Oh MC, Guire ES, Soderling TR (2007) Regulatory mechanisms of AMPA receptors in synaptic plasticity. *Nat Rev Neurosci* 8:101-113.

Desai NS, Cudmore RH, Nelson SB, Turrigiano GG (2002) Critical periods for experience-dependent synaptic scaling in visual cortex. *Nat Neurosci* 5:783-789.

Diamond MC (2001) Response of the brain to enrichment. *An Acad Bras Cienc* 73:211-220.

Drager UC (1975) Receptive fields of single cells and topography in mouse visual cortex. *J Comp Neurol* 160:269-290.

Drager UC, Olsen JF (1980) Origins of crossed and uncrossed retinal projections in pigmented and albino mice. *J Comp Neurol* 191:383-412.

Dragunow M, Faull R (1989) The use of c-fos as a metabolic marker in neuronal pathway tracing. *J Neurosci Methods* 29:261-265.

Edelmann L, Hanson PI, Chapman ER, Jahn R (1995) Synaptobrevin binding to synaptophysin: a potential mechanism for controlling the exocytotic fusion machine. *EMBO J* 14:224-231.

Ehlers MD (2003) Activity level controls postsynaptic composition and signaling via the ubiquitin-proteasome system. *Nat Neurosci* 6:231-242.

El-Husseini AE, Schnell E, Chetkovich DM, Nicoll RA, Brecht DS (2000) PSD-95 involvement in maturation of excitatory synapses. *Science* 290:1364-1368.

Elbert T, Sterr A, Rockstroh B, Pantev C, Muller MM, Taub E (2002) Expansion of the tonotopic area in the auditory cortex of the blind. *J Neurosci* 22:9941-9944.

Erzurumlu RS, Gaspar P (2012) Development and critical period plasticity of the barrel cortex. *Eur J Neurosci* 35:1540-1553.

Espinosa JS, Stryker MP (2012) Development and plasticity of the primary visual cortex. *Neuron* 75:230-249.

Fagiolini M, Katagiri H, Miyamoto H, Mori H, Grant SG, Mishina M, Hensch TK (2003) Separable features of visual cortical plasticity revealed by N-methyl-D-aspartate receptor 2A signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:2854-2859.

Fagiolini M, Pizzorusso T, Berardi N, Domenici L, Maffei L (1994) Functional postnatal development of the rat primary visual cortex and the role of visual experience: dark rearing and monocular deprivation. *Vision Res* 34:709-720.

Fares RP, Belmeguenai A, Sanchez PE, Kouchi HY, Bodennec J, Morales A, Georges B, Bonnet C, Bouvard S, Sloviter RS, Bezin L (2013) Standardized environmental enrichment supports enhanced brain plasticity in healthy rats and prevents cognitive impairment in epileptic rats. *PLoS One* 8:e53888.

Feldman DE (2001) A new critical period for sensory map plasticity. *Neuron* 31:171-173.

Feldman DE (2009) Synaptic mechanisms for plasticity in neocortex. *Annu Rev Neurosci* 32:33-55.

Feldman DE, Brainard MS, Knudsen EI (1996) Newly learned auditory responses mediated by NMDA receptors in the owl inferior colliculus. *Science* 271:525-528.

Fetter-Pruneda I, Geovannini-Acuna H, Santiago C, Ibarra-Viniegra AS, Martinez-Martinez E, Sandoval-Velasco M, Uribe-Figueroa L, Padilla-Cortes P, Mercado-Celis G, Gutierrez-Ospina G (2013) Shifts in developmental timing, and not increased levels of experience-dependent neuronal activity, promote barrel expansion in the primary somatosensory cortex of rats enucleated at birth. *PLoS One* 8:e54940.

Flint AC, Maisch US, Weishaupt JH, Kriegstein AR, Monyer H (1997) NR2A subunit expression shortens NMDA receptor synaptic currents in developing neocortex. *J Neurosci* 17:2469-2476.

Franklin KBJ, Paxinos G (2008) The mouse brain in stereotaxic coordinates. Elsevier Inc.

- Frost DO, Boire D, Gingras G, Ptito M (2000) Surgically created neural pathways mediate visual pattern discrimination. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:11068-11073.
- Furukawa H, Singh SK, Mancusso R, Gouaux E (2005) Subunit arrangement and function in NMDA receptors. *Nature* 438:185-192.
- Gainey MA, Hurvitz-Wolff JR, Lambo ME, Turrigiano GG (2009) Synaptic scaling requires the GluR2 subunit of the AMPA receptor. *J Neurosci* 29:6479-6489.
- Galli L, Maffei L (1988) Spontaneous impulse activity of rat retinal ganglion cells in prenatal life. *Science* 242:90-91.
- Gao E, DeAngelis GC, Burkhalter A (2010a) Parallel input channels to mouse primary visual cortex. *J Neurosci* 30:5912-5926.
- Gao M, Sossa K, Song L, Errington L, Cummings L, Hwang H, Kuhl D, Worley P, Lee HK (2010b) A specific requirement of Arc/Arg3.1 for visual experience-induced homeostatic synaptic plasticity in mouse primary visual cortex. *J Neurosci* 30:7168-7178.
- Geiger JR, Melcher T, Koh DS, Sakmann B, Seeburg PH, Jonas P, Monyer H (1995) Relative abundance of subunit mRNAs determines gating and Ca²⁺ permeability of AMPA receptors in principal neurons and interneurons in rat CNS. *Neuron* 15:193-204.
- Gereau RW, Swanson GT (2008) *The Glutamate Receptors*. Totowa, NJ, USA: Humana press.
- Ghazanfar AA, Schroeder CE (2006) Is neocortex essentially multisensory? *Trends Cogn Sci* 10:278-285.
- Gianfranceschi L, Siciliano R, Walls J, Morales B, Kirkwood A, Huang ZJ, Tonegawa S, Maffei L (2003) Visual cortex is rescued from the effects of dark rearing by overexpression of BDNF. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:12486-12491.
- Giard MH, Peronnet F (1999) Auditory-visual integration during multimodal object recognition in humans: a behavioral and electrophysiological study. *J Cogn Neurosci* 11:473-490.
- Gilbert CD (1998) Adult cortical dynamics. *Physiol Rev* 78:467-485.
- Goel A, Jiang B, Xu LW, Song L, Kirkwood A, Lee HK (2006) Cross-modal regulation of synaptic AMPA receptors in primary sensory cortices by visual experience. *Nat Neurosci* 9:1001-1003.
- Goel A, Lee HK (2007) Persistence of experience-induced homeostatic synaptic plasticity through adulthood in superficial layers of mouse visual cortex. *J Neurosci* 27:6692-6700.

Goel A, Xu LW, Snyder KP, Song L, Goenaga-Vazquez Y, Megill A, Takamiya K, Huganir RL, Lee HK (2011) Phosphorylation of AMPA receptors is required for sensory deprivation-induced homeostatic synaptic plasticity. *PLoS One* 6:e18264.

Goldreich D, Kanics IM (2003) Tactile acuity is enhanced in blindness. *J Neurosci* 23:3439-3445.

Goodman CS, Shatz CJ (1993) Developmental mechanisms that generate precise patterns of neuronal connectivity. *Cell* 72 Suppl:77-98.

Gordon JA, Stryker MP (1996) Experience-dependent plasticity of binocular responses in the primary visual cortex of the mouse. *J Neurosci* 16:3274-3286.

Gougoux F, Lepore F, Lassonde M, Voss P, Zatorre RJ, Belin P (2004) Neuropsychology: pitch discrimination in the early blind. *Nature* 430:309.

Greger IH, Khatri L, Ziff EB (2002) RNA editing at arg607 controls AMPA receptor exit from the endoplasmic reticulum. *Neuron* 34:759-772.

Gronborg M, Pavlos NJ, Brunk I, Chua JJ, Munster-Wandowski A, Riedel D, Ahnert-Hilger G, Urlaub H, Jahn R (2010) Quantitative comparison of glutamatergic and GABAergic synaptic vesicles unveils selectivity for few proteins including MAL2, a novel synaptic vesicle protein. *J Neurosci* 30:2-12.

Grooms SY, Noh KM, Regis R, Bassell GJ, Bryan MK, Carroll RC, Zukin RS (2006) Activity bidirectionally regulates AMPA receptor mRNA abundance in dendrites of hippocampal neurons. *J Neurosci* 26:8339-8351.

Guire ES, Lickey ME, Gordon B (1999) Critical period for the monocular deprivation effect in rats: assessment with sweep visually evoked potentials. *J Neurophysiol* 81:121-128.

Gyllenstein L, Malmfors T, Norrlin ML (1966) Growth alteration in the auditory cortex of visually deprived mice. *J Comp Neurol* 126:463-469.

Hahn CG, Banerjee A, Macdonald ML, Cho DS, Kamins J, Nie Z, Borgmann-Winter KE, Grosser T, Pizarro A, Ciccimaro E, Arnold SE, Wang HY, Blair IA (2009) The post-synaptic density of human postmortem brain tissues: an experimental study paradigm for neuropsychiatric illnesses. *PLoS One* 4:e5251.

Hall AJ, Lomber SG (2008) Auditory cortex projections target the peripheral field representation of primary visual cortex. *Exp Brain Res* 190:413-430.

Han YK, Kover H, Insanally MN, Semerdjian JH, Bao S (2007) Early experience impairs perceptual discrimination. *Nat Neurosci* 10:1191-1197.

Hanganu IL, Ben-Ari Y, Khazipov R (2006) Retinal waves trigger spindle bursts in the neonatal rat visual cortex. *J Neurosci* 26:6728-6736.

Hausfeld S, Power RP, Gorta A, Harris P (1982) Echo perception of shape and texture by sighted subjects. *Percept Mot Skills* 55:623-632.

Hebb DO (1949) *The organization of behavior*. New York.

Hensch TK (2004) Critical period regulation. *Annu Rev Neurosci* 27:549-579.

Hensch TK (2005) Critical period plasticity in local cortical circuits. *Nat Rev Neurosci* 6:877-888.

Herrmann K (1996) Differential distribution of AMPA receptors and glutamate during pre- and postnatal development in the visual cortex of ferrets. *J Comp Neurol* 375:1-17.

Heynen AJ, Yoon BJ, Liu CH, Chung HJ, Huganir RL, Bear MF (2003) Molecular mechanism for loss of visual cortical responsiveness following brief monocular deprivation. *Nat Neurosci* 6:854-862.

Hofbauer A, Dräger UC (1985) Depth segregation of retinal ganglion cells projecting to mouse superior colliculus. *J Comp Neurol* 234:465-474.

Hoog A, Gould VE, Grimelius L, Franke WW, Falkmer S, Chejfec G (1988) Tissue fixation methods alter the immunohistochemical demonstrability of synaptophysin. *Ultrastruct Pathol* 12:673-678.

Huang ZJ, Kirkwood A, Pizzorusso T, Porciatti V, Morales B, Bear MF, Maffei L, Tonegawa S (1999) BDNF regulates the maturation of inhibition and the critical period of plasticity in mouse visual cortex. *Cell* 98:739-755.

Hubel DH, Wiesel TN (1963) Shape and arrangement of columns in cat's striate cortex. *J Physiol* 165:559-568.

Hubel DH, Wiesel TN (1969) Anatomical demonstration of columns in the monkey striate cortex. *Nature* 221:747-750.

Hubel DH, Wiesel TN (1970) The period of susceptibility to the physiological effects of unilateral eye closure in kittens. *J Physiol* 206:419-436.

Hubel DH, Wiesel TN (1977) Ferrier lecture. Functional architecture of macaque monkey visual cortex. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 198:1-59.

Huberman AD, Feller MB, Chapman B (2008) Mechanisms underlying development of visual maps and receptive fields. *Annu Rev Neurosci* 31:479-509.

Huberman AD, Niell CM (2011) What can mice tell us about how vision works? *Trends Neurosci* 34:464-473.

Hunt CA, Schenker LJ, Kennedy MB (1996) PSD-95 is associated with the postsynaptic density and not with the presynaptic membrane at forebrain synapses. *J Neurosci* 16:1380-1388.

Ickes BR, Pham TM, Sanders LA, Albeck DS, Mohammed AH, Granholm AC (2000) Long-term environmental enrichment leads to regional increases in neurotrophin levels in rat brain. *Exp Neurol* 164:45-52.

Iwai Y, Fagiolini M, Obata K, Hensch TK (2003) Rapid critical period induction by tonic inhibition in visual cortex. *J Neurosci* 23:6695-6702.

Izraeli R, Koay G, Lamish M, Heicklen-Klein AJ, Heffner HE, Heffner RS, Wollberg Z (2002) Cross-modal neuroplasticity in neonatally enucleated hamsters: structure, electrophysiology and behaviour. *Eur J Neurosci* 15:693-712.

Jaffer S, Vorobyov V, Kind PC, Sengpiel F (2012a) Experience-dependent regulation of functional maps and synaptic protein expression in the cat visual cortex. *Eur J Neurosci* 35:1281-1294.

Jaffer S, Vorobyov V, Kind PC, Sengpiel F (2012b) Experience-dependent regulation of functional maps and synaptic protein expression in the cat visual cortex. *Eur J Neurosci* 35:1281-1294.

Jahn R, Schiebler W, Ouimet C, Greengard P (1985) A 38,000-dalton membrane protein (p38) present in synaptic vesicles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 82:4137-4141.

Janz R, Sudhof TC, Hammer RE, Unni V, Siegelbaum SA, Bolshakov VY (1999) Essential roles in synaptic plasticity for synaptogyrin I and synaptophysin I. *Neuron* 24:687-700.

Jiang B, Trevino M, Kirkwood A (2007) Sequential development of long-term potentiation and depression in different layers of the mouse visual cortex. *J Neurosci* 27:9648-9652.

Jo J, Ball SM, Seok H, Oh SB, Massey PV, Molnar E, Bashir ZI, Cho K (2006) Experience-dependent modification of mechanisms of long-term depression. *Nat Neurosci* 9:170-172.

Jourdi H, Kabbaj M (2013) Acute BDNF treatment upregulates GluR1-SAP97 and GluR2-GRIP1 interactions: implications for sustained AMPA receptor expression. *PLoS One* 8:e57124.

Ju W, Morishita W, Tsui J, Gaietta G, Deerinck TJ, Adams SR, Garner CC, Tsien RY, Ellisman MH, Malenka RC (2004) Activity-dependent regulation of dendritic synthesis and trafficking of AMPA receptors. *Nat Neurosci* 7:244-253.

Kahn DM, Krubitzer L (2002) Massive cross-modal cortical plasticity and the emergence of a new cortical area in developmentally blind mammals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99:11429-11434.

Kaiserman-Abramof IR (1979) Quantitative comparison of spines in layer V neurons of the striate cortex in anophthalmic mutant and normal mice. *Brain Res* 179:385-389.

- Karlen SJ, Krubitzer L (2009) Effects of bilateral enucleation on the size of visual and nonvisual areas of the brain. *Cereb Cortex* 19:1360-1371.
- Katz LC, Crowley JC (2002) Development of cortical circuits: lessons from ocular dominance columns. *Nat Rev Neurosci* 3:34-42.
- Katz LC, Shatz CJ (1996) Synaptic activity and the construction of cortical circuits. *Science* 274:1133-1138.
- Kauffman T, Theoret H, Pascual-Leone A (2002) Braille character discrimination in blindfolded human subjects. *Neuroreport* 13:571-574.
- Keith D, El-Husseini A (2008) Excitation Control: Balancing PSD-95 Function at the Synapse. *Front Mol Neurosci* 1:4.
- Kennedy MJ, Ehlers MD (2006) Organelles and trafficking machinery for postsynaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 29:325-362.
- King AJ, Parsons CH (1999) Improved auditory spatial acuity in visually deprived ferrets. *Eur J Neurosci* 11:3945-3956.
- Kirkwood A, Lee HK, Bear MF (1995) Co-regulation of long-term potentiation and experience-dependent synaptic plasticity in visual cortex by age and experience. *Nature* 375:328-331.
- Kleinfeld D, Ahissar E, Diamond ME (2006) Active sensation: insights from the rodent vibrissa sensorimotor system. *Curr Opin Neurobiol* 16:435-444.
- Kleinschmidt A, Bear MF, Singer W (1987) Blockade of "NMDA" receptors disrupts experience-dependent plasticity of kitten striate cortex. *Science* 238:355-358.
- Kleppe IC, Robinson HP (1999) Determining the activation time course of synaptic AMPA receptors from openings of colocalized NMDA receptors. *Biophys J* 77:1418-1427.
- Kolb B, Whishaw I (2002) *Cerveau & Comportement*. Paris & Bruxelles.
- Kornau HC, Schenker LT, Kennedy MB, Seeburg PH (1995a) Domain interaction between NMDA receptor subunits and the postsynaptic density protein PSD-95. *Science* 269:1737-1740.
- Kornau HC, Schenker LT, Kennedy MB, Seeburg PH (1995b) Domain interaction between NMDA receptor subunits and the postsynaptic density protein PSD-95. *Science* 269:1737-1740.
- Kornau HC, Seeburg PH, Kennedy MB (1997) Interaction of ion channels and receptors with PDZ domain proteins. *Curr Opin Neurobiol* 7:368-373.
- Krogh A (1929) The progress of physiology. *Science* 70:200-204.

Krubitzer L (2007) The magnificent compromise: cortical field evolution in mammals. *Neuron* 56:201-208.

Krubitzer L (2009) In search of a unifying theory of complex brain evolution. *Ann N Y Acad Sci* 1156:44-67.

Kwon SE, Chapman ER (2011) Synaptophysin regulates the kinetics of synaptic vesicle endocytosis in central neurons. *Neuron* 70:847-854.

Laramée ME, Kurotani T, Rockland KS, Bronchti G, Boire D (2011) Indirect pathway between the primary auditory and visual cortices through layer V pyramidal neurons in V2L in mouse and the effects of bilateral enucleation. *Eur J Neurosci* 34:65-78.

Laramée ME, Rockland KS, Prince S, Bronchti G, Boire D (2012) Principal Component and Cluster Analysis of Layer V Pyramidal Cells in Visual and Non-Visual Cortical Areas Projecting to the Primary Visual Cortex of the Mouse. *Cereb Cortex*.

Latefi NS, Pedraza L, Schohl A, Li Z, Ruthazer ES (2009) N-cadherin prodomain cleavage regulates synapse formation in vivo. *Dev Neurobiol* 69:518-529.

Lau CG, Zukin RS (2007) NMDA receptor trafficking in synaptic plasticity and neuropsychiatric disorders. *Nat Rev Neurosci* 8:413-426.

Laurie DJ, Bartke I, Schoepfer R, Naujoks K, Seeburg PH (1997) Regional, developmental and interspecies expression of the four NMDAR2 subunits, examined using monoclonal antibodies. *Brain Res Mol Brain Res* 51:23-32.

Leclerc C, Saint-Amour D, Lavoie ME, Lassonde M, Lepore F (2000) Brain functional reorganization in early blind humans revealed by auditory event-related potentials. *Neuroreport* 11:545-550.

Leclerc N, Beesley PW, Brown I, Colonnier M, Gurd JW, Paladino T, Hawkes R (1989) Synaptophysin expression during synaptogenesis in the rat cerebellar cortex. *J Comp Neurol* 280:197-212.

Lequeux L, Rio M, Vigouroux A, Titeux M, Etchevers H, Malecaze F, Chassaing N, Calvas P (2008) Confirmation of RAX gene involvement in human anophthalmia. *Clin Genet* 74:392-395.

Lessard N, Pare M, Lepore F, Lassonde M (1998) Early-blind human subjects localize sound sources better than sighted subjects. *Nature* 395:278-280.

Levelt CN, Hubener M (2012) Critical-period plasticity in the visual cortex. *Annu Rev Neurosci* 35:309-330.

Lewis TL, Maurer D (2005) Multiple sensitive periods in human visual development: evidence from visually deprived children. *Dev Psychobiol* 46:163-183.

- Li B, Otsu Y, Murphy TH, Raymond LA (2003) Developmental decrease in NMDA receptor desensitization associated with shift to synapse and interaction with postsynaptic density-95. *J Neurosci* 23:11244-11254.
- Li C, Cheng M, Yang H, Peachey NS, Naash MI (2001) Age-related changes in the mouse outer retina. *Optom Vis Sci* 78:425-430.
- Lin Y, Skeberdis VA, Francesconi A, Bennett MV, Zukin RS (2004) Postsynaptic density protein-95 regulates NMDA channel gating and surface expression. *J Neurosci* 24:10138-10148.
- Lincoln J, Coopersmith R, Harris EW, Cotman CW, Leon M (1988) NMDA receptor activation and early olfactory learning. *Brain Res* 467:309-312.
- Linden DJ, Connor JA (1995) Long-term synaptic depression. *Annu Rev Neurosci* 18:319-357.
- Lissin DV, Gomperts SN, Carroll RC, Christine CW, Kalman D, Kitamura M, Hardy S, Nicoll RA, Malenka RC, von ZM (1998) Activity differentially regulates the surface expression of synaptic AMPA and NMDA glutamate receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:7097-7102.
- Lodovichi C, Berardi N, Pizzorusso T, Maffei L (2000) Effects of neurotrophins on cortical plasticity: same or different? *J Neurosci* 20:2155-2165.
- Lopez-Bendito G, Molnar Z (2003) Thalamocortical development: how are we going to get there? *Nat Rev Neurosci* 4:276-289.
- Lu HC, Gonzalez E, Crair MC (2001) Barrel cortex critical period plasticity is independent of changes in NMDA receptor subunit composition. *Neuron* 32:619-634.
- Lu W, Shi Y, Jackson AC, Bjorgan K, Doring MJ, Sprengel R, Seeburg PH, Nicoll RA (2009) Subunit composition of synaptic AMPA receptors revealed by a single-cell genetic approach. *Neuron* 62:254-268.
- Ma B, Savas JN, Chao MV, Tanese N (2012) Quantitative analysis of BDNF/TrkB protein and mRNA in cortical and striatal neurons using alpha-tubulin as a normalization factor. *Cytometry A* 81:704-717.
- MacPhee DJ (2010) Methodological considerations for improving Western blot analysis. *J Pharmacol Toxicol Methods* 61:171-177.
- Maffei A, Nelson SB, Turrigiano GG (2004) Selective reconfiguration of layer 4 visual cortical circuitry by visual deprivation. *Nat Neurosci* 7:1353-1359.
- Maffei A, Turrigiano GG (2008) Multiple modes of network homeostasis in visual cortical layer 2/3. *J Neurosci* 28:4377-4384.

Mahata SK, Marksteiner J, Sperk G, Mahata M, Gruber B, Fischer-Colbrie R, Winkler H (1992) Temporal lobe epilepsy of the rat: differential expression of mRNAs of chromogranin B, secretogranin II, synaptin/synaptophysin and p65 in subfield of the hippocampus. *Brain Res Mol Brain Res* 16:1-12.

Mainardi M, Landi S, Gianfranceschi L, Baldini S, De PR, Berardi N, Maffei L, Caleo M (2010a) Environmental enrichment potentiates thalamocortical transmission and plasticity in the adult rat visual cortex. *J Neurosci Res* 88:3048-3059.

Mainardi M, Landi S, Gianfranceschi L, Baldini S, De PR, Berardi N, Maffei L, Caleo M (2010b) Environmental enrichment potentiates thalamocortical transmission and plasticity in the adult rat visual cortex. *J Neurosci Res* 88:3048-3059.

Malenka RC (2003) Synaptic plasticity and AMPA receptor trafficking. *Ann N Y Acad Sci* 1003:1-11.

Malenka RC, Bear MF (2004) LTP and LTD: an embarrassment of riches. *Neuron* 44:5-21.

Malinow R, Malenka RC (2002) AMPA receptor trafficking and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci* 25:103-126.

Mao Y, Zang S, Zhang J, Sun X (2006) Early chronic blockade of NR2B subunits and transient activation of NMDA receptors modulate LTP in mouse auditory cortex. *Brain Res* 1073-1074:131-138.

Massey PV, Bashir ZI (2007) Long-term depression: multiple forms and implications for brain function. *Trends Neurosci* 30:176-184.

Mathers PH, Grinberg A, Mahon KA, Jamrich M (1997) The Rx homeobox gene is essential for vertebrate eye development. *Nature* 387:603-607.

Mayer ML (2006) Glutamate receptors at atomic resolution. *Nature* 440:456-462.

McMahon HT, Bolshakov VY, Janz R, Hammer RE, Siegelbaum SA, Sudhof TC (1996) Synaptophysin, a major synaptic vesicle protein, is not essential for neurotransmitter release. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:4760-4764.

Merabet LB, Hamilton R, Schlaug G, Swisher JD, Kiriakopoulos ET, Pitskel NB, Kauffman T, Pascual-Leone A (2008) Rapid and reversible recruitment of early visual cortex for touch. *PLoS One* 3:e3046.

Micheva KD, Busse B, Weiler NC, O'Rourke N, Smith SJ (2010) Single-synapse analysis of a diverse synapse population: proteomic imaging methods and markers. *Neuron* 68:639-653.

Middlebrooks JC, Green DM (1991) Sound localization by human listeners. *Annu Rev Psychol* 42:135-159.

Mohammed AH, Zhu SW, Darmopil S, Hjerling-Leffler J, Ernfors P, Winblad B, Diamond MC, Eriksson PS, Bogdanovic N (2002) Environmental enrichment and the brain. *Prog Brain Res* 138:109-133.

Monyer H, Burnashev N, Laurie DJ, Sakmann B, Seeburg PH (1994) Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors. *Neuron* 12:529-540.

Monyer H, Seeburg PH, Wisden W (1991) Glutamate-operated channels: developmentally early and mature forms arise by alternative splicing. *Neuron* 6:799-810.

Monyer H, Sprengel R, Schoepfer R, Herb A, Higuchi M, Lomeli H, Burnashev N, Sakmann B, Seeburg PH (1992) Heteromeric NMDA receptors: molecular and functional distinction of subtypes. *Science* 256:1217-1221.

Morrell F (1972) Visual system's view of acoustic space. *Nature* 238:44-46.

Mower GD (1991) The effect of dark rearing on the time course of the critical period in cat visual cortex. *Brain Res Dev Brain Res* 58:151-158.

Mower GD, Christen WG (1985) Role of visual experience in activating critical period in cat visual cortex. *J Neurophysiol* 53:572-589.

Mrsic-Flogel TD, Hofer SB, Ohki K, Reid RC, Bonhoeffer T, Hubener M (2007) Homeostatic regulation of eye-specific responses in visual cortex during ocular dominance plasticity. *Neuron* 54:961-972.

Murphy KM, Tcharnaia L, Beshara SP, Jones DG (2012) Cortical development of AMPA receptor trafficking proteins. *Front Mol Neurosci* 5:65.

Nakanishi S, Masu M, Bessho Y, Nakajima Y, Hayashi Y, Shigemoto R (1994) Molecular diversity of glutamate receptors and their physiological functions. *EXS* 71:71-80.

Nase G, Weishaupt J, Stern P, Singer W, Monyer H (1999) Genetic and epigenetic regulation of NMDA receptor expression in the rat visual cortex. *Eur J Neurosci* 11:4320-4326.

Nassi JJ, Callaway EM (2009) Parallel processing strategies of the primate visual system. *Nat Rev Neurosci* 10:360-372.

Neve RL, Bear MF (1989) Visual experience regulates gene expression in the developing striate cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:4781-4784.

Niell CM, Stryker MP (2008) Highly selective receptive fields in mouse visual cortex. *J Neurosci* 28:7520-7536.

Niemeyer W, Starlinger I (1981) Do the blind hear better? Investigations on auditory processing in congenital or early acquired blindness. II. Central functions. *Audiology* 20:510-515.

Nieuwenhuys R, Voogd J, and Huijzen C (2008) *The Human Central Nervous System*. Berlin.

Nordeen KW, Nordeen EJ (2004) Synaptic and molecular mechanisms regulating plasticity during early learning. *Ann N Y Acad Sci* 1016:416-437.

O'Brien RJ, Kamboj S, Ehlers MD, Rosen KR, Fischbach GD, Huganir RL (1998) Activity-dependent modulation of synaptic AMPA receptor accumulation. *Neuron* 21:1067-1078.

Okotore RO (1998) *Basic separation techniques in biochemistry*. Daryaganj, New Delhi: New Age International (P) Ltd.

Olson CR, Freeman RD (1980) Profile of the sensitive period for monocular deprivation in kittens. *Exp Brain Res* 39:17-21.

Pascual-Leone A, Amedi A, Fregni F, Merabet LB (2005) The plastic human brain cortex. *Annu Rev Neurosci* 28:377-401.

Pascual-Leone A, Torres F (1993) Plasticity of the sensorimotor cortex representation of the reading finger in Braille readers. *Brain* 116 (Pt 1):39-52.

Pellegrini-Giampietro DE (2003) An activity-dependent spermine-mediated mechanism that modulates glutamate transmission. *Trends Neurosci* 26:9-11.

Perez-Otano I, Ehlers MD (2005) Homeostatic plasticity and NMDA receptor trafficking. *Trends Neurosci* 28:229-238.

Perry VH, Cowey A (1984) Retinal ganglion cells that project to the superior colliculus and pretectum in the macaque monkey. *Neuroscience* 12:1125-1137.

Pham TM, Winblad B, Granholm AC, Mohammed AH (2002) Environmental influences on brain neurotrophins in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 73:167-175.

Philpot BD, Sekhar AK, Shouval HZ, Bear MF (2001) Visual experience and deprivation bidirectionally modify the composition and function of NMDA receptors in visual cortex. *Neuron* 29:157-169.

Piche M, Chabot N, Bronchti G, Miceli D, Lepore F, Guillemot JP (2007) Auditory responses in the visual cortex of neonatally enucleated rats. *Neuroscience* 145:1144-1156.

- Piché M, Robert S, Miceli D, Bronchti G (2004) Environmental enrichment enhances auditory takeover of the occipital cortex in anophthalmic mice. *Eur J Neurosci* 20:3463-3472.
- Pierro LJ, Spiggle J (1967) Congenital eye defects in the mouse. I. Corneal opacity in C57black mice. *J Exp Zool* 166:25-33.
- Price DJ, Ferrer JM, Blakemore C, Kato N (1994) Postnatal development and plasticity of corticocortical projections from area 17 to area 18 in the cat's visual cortex. *J Neurosci* 14:2747-2762.
- Prusky GT, Douglas RM (2004) Characterization of mouse cortical spatial vision. *Vision Res* 44:3411-3418.
- Purves D, Augustine GJ, Fitzpatrick D, Katz LC, LaMantia A-S, McNamara JO, Williams MS (2013) *Neurosciences*. Bruxelles: De Boeck.
- Quinlan EM, Olstein DH, Bear MF (1999) Bidirectional, experience-dependent regulation of N-methyl-D-aspartate receptor subunit composition in the rat visual cortex during postnatal development. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:12876-12880.
- Ramoas AS, Mower AF, Liao D, Jafri SI (2001) Suppression of cortical NMDA receptor function prevents development of orientation selectivity in the primary visual cortex. *J Neurosci* 21:4299-4309.
- Rao A, Craig AM (1997) Activity regulates the synaptic localization of the NMDA receptor in hippocampal neurons. *Neuron* 19:801-812.
- Rauschecker JP, Kniepert U (1994) Auditory localization behaviour in visually deprived cats. *Eur J Neurosci* 6:149-160.
- Rauschecker JP, Korte M (1993) Auditory compensation for early blindness in cat cerebral cortex. *J Neurosci* 13:4538-4548.
- Rauschecker JP, Tian B, Korte M, Egert U (1992) Crossmodal changes in the somatosensory vibrissa/barrel system of visually deprived animals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:5063-5067.
- Renier L, De Volder AG, Rauschecker JP (2013) Cortical plasticity and preserved function in early blindness. *Neurosci Biobehav Rev*.
- Renier LA, Anurova I, De Volder AG, Carlson S, VanMeter J, Rauschecker JP (2010) Preserved functional specialization for spatial processing in the middle occipital gyrus of the early blind. *Neuron* 68:138-148.
- Reymann KG, Frey JU (2007) The late maintenance of hippocampal LTP: requirements, phases, 'synaptic tagging', 'late-associativity' and implications. *Neuropharmacology* 52:24-40.

Riddle DR, Gutierrez G, Zheng D, White LE, Richards A, Purves D (1993) Differential metabolic and electrical activity in the somatic sensory cortex of juvenile and adult rats. *J Neurosci* 13:4193-4213.

Roberts EB, Meredith MA, Ramoa AS (1998) Suppression of NMDA receptor function using antisense DNA block ocular dominance plasticity while preserving visual responses. *J Neurophysiol* 80:1021-1032.

Roberts EB, Ramoa AS (1999) Enhanced NR2A subunit expression and decreased NMDA receptor decay time at the onset of ocular dominance plasticity in the ferret. *J Neurophysiol* 81:2587-2591.

Robinson ML, Holmgren A, Dewey MJ (1993) Genetic control of ocular morphogenesis: defective lens development associated with ocular anomalies in C57BL/6 mice. *Exp Eye Res* 56:7-16.

Roder B, Rosler F, Spence C (2004) Early vision impairs tactile perception in the blind. *Curr Biol* 14:121-124.

Rosenmund C, Stern-Bach Y, Stevens CF (1998) The tetrameric structure of a glutamate receptor channel. *Science* 280:1596-1599.

Ryugo DK, Ryugo R, Globus A, Killackey HP (1975) Increased spine density in auditory cortex following visual or somatic deafferentation. *Brain Res* 90:143-146.

Sadato N, Pascual-Leone A, Grafman J, Ibanez V, Deiber MP, Dold G, Hallett M (1996) Activation of the primary visual cortex by Braille reading in blind subjects. *Nature* 380:526-528.

Sans N, Petralia RS, Wang YX, Blahos J, Hell JW, Wenthold RJ (2000) A developmental change in NMDA receptor-associated proteins at hippocampal synapses. *J Neurosci* 20:1260-1271.

Sanz-Clemente A, Nicoll RA, Roche KW (2012) Diversity in NMDA Receptor Composition: Many Regulators, Many Consequences. *Neuroscientist*.

Sawtell NB, Frenkel MY, Philpot BD, Nakazawa K, Tonegawa S, Bear MF (2003) NMDA receptor-dependent ocular dominance plasticity in adult visual cortex. *Neuron* 38:977-985.

Schlaggar BL, Fox K, O'Leary DD (1993) Postsynaptic control of plasticity in developing somatosensory cortex. *Nature* 364:623-626.

Schluter OM, Xu W, Malenka RC (2006) Alternative N-terminal domains of PSD-95 and SAP97 govern activity-dependent regulation of synaptic AMPA receptor function. *Neuron* 51:99-111.

Schuettauf F, Rejdak R, Walski M, Frontczak-Baniewicz M, Voelker M, Blatsios G, Shinoda K, Zagorski Z, Zrenner E, Grieb P (2004) Retinal neurodegeneration in the DBA/2J mouse-a model for ocular hypertension. *Acta Neuropathol* 107:352-358.

Schuman EM, Dynes JL, Steward O (2006) Synaptic regulation of translation of dendritic mRNAs. *J Neurosci* 26:7143-7146.

Sennepin AD, Charpentier S, Normand T, Sarre C, Legrand A, Mollet LM (2009) Multiple reprobing of Western blots after inactivation of peroxidase activity by its substrate, hydrogen peroxide. *Anal Biochem* 393:129-131.

Shatz CJ, Stryker MP (1988) Prenatal tetrodotoxin infusion blocks segregation of retinogeniculate afferents. *Science* 242:87-89.

Sheng M, Cummings J, Roldan LA, Jan YN, Jan LY (1994) Changing subunit composition of heteromeric NMDA receptors during development of rat cortex. *Nature* 368:144-147.

Shepherd JD, Huganir RL (2007) The cell biology of synaptic plasticity: AMPA receptor trafficking. *Annu Rev Cell Dev Biol* 23:613-643.

Silver J, Hughes AF (1974) The relationship between morphogenetic cell death and the development of congenital anophthalmia. *J Comp Neurol* 157:281-301.

Silver J, Puck SM, Albert DM (1984) Development and aging of the eye in mice with inherited optic nerve aplasia: histopathological studies. *Exp Eye Res* 38:257-266.

Sjostrom PJ, Rancz EA, Roth A, Hausser M (2008) Dendritic excitability and synaptic plasticity. *Physiol Rev* 88:769-840.

Smith RS, Roderick TH, Sundberg JP (1994) Microphthalmia and associated abnormalities in inbred black mice. *Lab Anim Sci* 44:551-560.

Sobolevsky AI, Rosconi MP, Gouaux E (2009) X-ray structure, symmetry and mechanism of an AMPA-subtype glutamate receptor. *Nature* 462:745-756.

Stathakis DG, Hoover KB, You Z, Bryant PJ (1997) Human postsynaptic density-95 (PSD95): location of the gene (DLG4) and possible function in nonneural as well as in neural tissues. *Genomics* 44:71-82.

Sterr A, Muller MM, Elbert T, Rockstroh B, Pantev C, Taub E (1998a) Changed perceptions in Braille readers. *Nature* 391:134-135.

Sterr A, Muller MM, Elbert T, Rockstroh B, Pantev C, Taub E (1998b) Perceptual correlates of changes in cortical representation of fingers in blind multifinger Braille readers. *J Neurosci* 18:4417-4423.

Steward O, Schuman EM (2001) Protein synthesis at synaptic sites on dendrites. *Annu Rev Neurosci* 24:299-325.

Stocca G, Vicini S (1998) Increased contribution of NR2A subunit to synaptic NMDA receptors in developing rat cortical neurons. *J Physiol* 507 (Pt 1):13-24.

Stryker MP, Harris WA (1986) Binocular impulse blockade prevents the formation of ocular dominance columns in cat visual cortex. *J Neurosci* 6:2117-2133.

Sur M, Rubenstein JL (2005) Patterning and plasticity of the cerebral cortex. *Science* 310:805-810.

Takamori S, et al. (2006) Molecular anatomy of a trafficking organelle. *Cell* 127:831-846.

Tessier-Lavigne M, Goodman CS (1996) The molecular biology of axon guidance. *Science* 274:1123-1133.

Thiagarajan TC, Lindskog M, Tsien RW (2005) Adaptation to synaptic inactivity in hippocampal neurons. *Neuron* 47:725-737.

Thiel G (1993) Synapsin I, synapsin II, and synaptophysin: marker proteins of synaptic vesicles. *Brain Pathol* 3:87-95.

Tognini P, Manno I, Bonaccorsi J, Cenni MC, Sale A, Maffei L (2012) Environmental enrichment promotes plasticity and visual acuity recovery in adult monocular amblyopic rats. *PLoS One* 7:e34815.

Toldi J, Farkas T, Volgyi B (1994) Neonatal enucleation induces cross-modal changes in the barrel cortex of rat. A behavioural and electrophysiological study. *Neurosci Lett* 167:1-4.

Toldi J, Feher O, Wolff JR (1996) Neuronal plasticity induced by neonatal monocular (and binocular) enucleation. *Prog Neurobiol* 48:191-218.

Tomita S, Chen L, Kawasaki Y, Petralia RS, Wenthold RJ, Nicoll RA, Brecht DS (2003) Functional studies and distribution define a family of transmembrane AMPA receptor regulatory proteins. *J Cell Biol* 161:805-816.

Tomita S, Stein V, Stocker TJ, Nicoll RA, Brecht DS (2005) Bidirectional synaptic plasticity regulated by phosphorylation of stargazin-like TARPs. *Neuron* 45:269-277.

Tovar KR, Westbrook GL (1999) The incorporation of NMDA receptors with a distinct subunit composition at nascent hippocampal synapses in vitro. *J Neurosci* 19:4180-4188.

Townsend M, Yoshii A, Mishina M, Constantine-Paton M (2003) Developmental loss of miniature N-methyl-D-aspartate receptor currents in NR2A knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:1340-1345.

Tropea D, Van WA, Sur M (2009) Molecular mechanisms of experience-dependent plasticity in visual cortex. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364:341-355.

Tucker P, Laemle L, Munson A, Kanekar S, Oliver ER, Brown N, Schlecht H, Vetter M, Glaser T (2001) The eyeless mouse mutation (*ey1*) removes an alternative start codon from the *Rx/rax* homeobox gene. *Genesis* 31:43-53.

Turrigiano GG, Leslie KR, Desai NS, Rutherford LC, Nelson SB (1998) Activity-dependent scaling of quantal amplitude in neocortical neurons. *Nature* 391:892-896.

Turrigiano GG, Nelson SB (1998) Thinking globally, acting locally: AMPA receptor turnover and synaptic strength. *Neuron* 21:933-935.

Turrigiano GG, Nelson SB (2004) Homeostatic plasticity in the developing nervous system. *Nat Rev Neurosci* 5:97-107.

Uesaka N, Ruthazer ES, Yamamoto N (2006) The role of neural activity in cortical axon branching. *Neuroscientist* 12:102-106.

Ungerleider LG, Courtney SM, Haxby JV (1998) A neural system for human visual working memory. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:883-890.

Ungerleider LG, Haxby JV (1994) 'What' and 'where' in the human brain. *Curr Opin Neurobiol* 4:157-165.

Valtorta F, Pennuto M, Bonanomi D, Benfenati F (2004) Synaptophysin: leading actor or walk-on role in synaptic vesicle exocytosis? *Bioessays* 26:445-453.

Van Boven RW, Hamilton RH, Kauffman T, Keenan JP, Pascual-Leone A (2000) Tactile spatial resolution in blind braille readers. *Neurology* 54:2230-2236.

Van BL, Gerits A, Arckens L (2011) Evidence for cross-modal plasticity in adult mouse visual cortex following monocular enucleation. *Cereb Cortex* 21:2133-2146.

Verma AS, Fitzpatrick DR (2007) Anophthalmia and microphthalmia. *Orphanet J Rare Dis* 2:47.

Villasana LE, Klann E, Tejada-Simon MV (2006) Rapid isolation of synaptoneurosomes and postsynaptic densities from adult mouse hippocampus. *J Neurosci Methods* 158:30-36.

von Melchner L, Pallas SL, Sur M (2000) Visual behaviour mediated by retinal projections directed to the auditory pathway. *Nature* 404:871-876.

Voronina VA, Kozhemyakina EA, O'Kernick CM, Kahn ND, Wenger SL, Linberg JV, Schneider AS, Mathers PH (2004) Mutations in the human *RAX* homeobox gene in a patient with anophthalmia and sclerocornea. *Hum Mol Genet* 13:315-322.

Wallace MT, Ramachandran R, Stein BE (2004) A revised view of sensory cortical parcellation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101:2167-2172.

Wang Q, Gao E, Burkhalter A (2011) Gateways of ventral and dorsal streams in mouse visual cortex. *J Neurosci* 31:1905-1918.

Waterston RH, et al. (2002) Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature* 420:520-562.

Watson C., Paxinos G., Puelles L. (2011) *The Mouse Nervous System*. Academic press.

Watt AJ, Desai NS (2010) Homeostatic Plasticity and STDP: Keeping a Neuron's Cool in a Fluctuating World. *Front Synaptic Neurosci* 2:5.

Watt AJ, van Rossum MC, MacLeod KM, Nelson SB, Turrigiano GG (2000) Activity coregulates quantal AMPA and NMDA currents at neocortical synapses. *Neuron* 26:659-670.

Weliky M, Katz LC (1999) Correlational structure of spontaneous neuronal activity in the developing lateral geniculate nucleus in vivo. *Science* 285:599-604.

Wentholt RJ, Petralia RS, Blahos J, II, Niedzielski AS (1996) Evidence for multiple AMPA receptor complexes in hippocampal CA1/CA2 neurons. *J Neurosci* 16:1982-1989.

Westmark PR, Westmark CJ, Jeevananthan A, Malter JS (2011) Preparation of synaptoneurosomes from mouse cortex using a discontinuous percoll-sucrose density gradient. *J Vis Exp*.

Whitt JL, Petrus E, Lee HK (2013) Experience-dependent homeostatic synaptic plasticity in neocortex. *Neuropharmacology*.

Wiedenmann B, Franke WW (1985) Identification and localization of synaptophysin, an integral membrane glycoprotein of Mr 38,000 characteristic of presynaptic vesicles. *Cell* 41:1017-1028.

Wiesel TN, Hubel DH (1963a) EFFECTS OF VISUAL DEPRIVATION ON MORPHOLOGY AND PHYSIOLOGY OF CELLS IN THE CATS LATERAL GENICULATE BODY. *J Neurophysiol* 26:978-993.

Wiesel TN, Hubel DH (1963b) Single-cell responses in striate cortex of kittens deprived of vision in one eye. *J Neurophysiol* 26:1003-1017.

Wiesel TN, Hubel DH (1965) Comparison of the effects of unilateral and bilateral eye closure on cortical unit responses in kittens. *J Neurophysiol* 28:1029-1040.

Wisden W, Seeburg PH (1993) Mammalian ionotropic glutamate receptors. *Curr Opin Neurobiol* 3:291-298.

- Wong AA, Brown RE (2006) Visual detection, pattern discrimination and visual acuity in 14 strains of mice. *Genes Brain Behav* 5:389-403.
- Wong RO (1999) Retinal waves and visual system development. *Annu Rev Neurosci* 22:29-47.
- Woolsey TA, Van der Loos H (1970) The structural organization of layer IV in the somatosensory region (SI) of mouse cerebral cortex. The description of a cortical field composed of discrete cytoarchitectonic units. *Brain Res* 17:205-242.
- Woolsey TA, Welker C, Schwartz RH (1975) Comparative anatomical studies of the SmL face cortex with special reference to the occurrence of "barrels" in layer IV. *J Comp Neurol* 164:79-94.
- Yaka R, Yinon U, Rosner M, Wollberg Z (2000) Pathological and experimentally induced blindness induces auditory activity in the cat primary visual cortex. *Exp Brain Res* 131:144-148.
- Yashiro K, Corlew R, Philpot BD (2005) Visual deprivation modifies both presynaptic glutamate release and the composition of perisynaptic/extrasynaptic NMDA receptors in adult visual cortex. *J Neurosci* 25:11684-11692.
- Yashiro K, Philpot BD (2008) Regulation of NMDA receptor subunit expression and its implications for LTD, LTP, and metaplasticity. *Neuropharmacology* 55:1081-1094.
- Yoshii A, Sheng MH, Constantine-Paton M (2003) Eye opening induces a rapid dendritic localization of PSD-95 in central visual neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:1334-1339.
- Zhang LI, Poo MM (2001) Electrical activity and development of neural circuits. *Nat Neurosci* 4 Suppl:1207-1214.
- Zheng D, Purves D (1995) Effects of increased neural activity on brain growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92:1802-1806.
- Zhu H, Zhang J, Sun H, Zhang L, Liu H, Zeng X, Yang Y, Yao Z (2011) An enriched environment reverses the synaptic plasticity deficit induced by chronic cerebral hypoperfusion. *Neurosci Lett* 502:71-75.

ANNEXE A

MODULATION DE L'EXPRESSION DES PROTÉINES ÉTUDIÉES EN UTILISANT LES SOURIS ÉNUCLÉÉES COMME CONTRÔLE

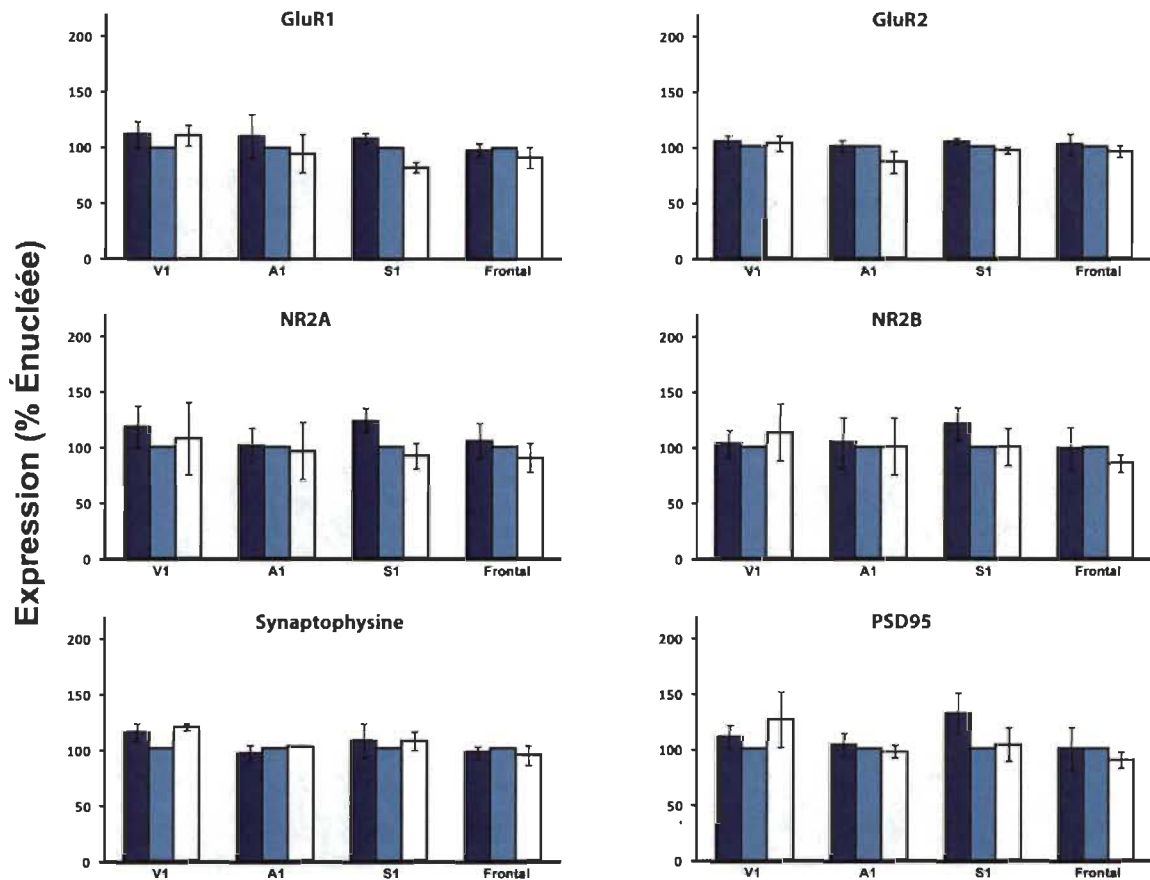


Figure A.1 Expression des protéines GluR1, GluR2, NR2A, NR2B, Synaptophysine et PSD95 chez les souris voyantes et anophtalme par rapport aux souris énucléées

Les résultats obtenus lors de nos expériences ont été recalculés en utilisant les souris énucléées comme contrôle afin de s'assurer que la variabilité obtenue lors de nos expériences n'était pas attribuable à une modification de l'expression chez les souris voyantes selon le nombre d'heure d'exposition à la lumière. Aucune modulation significative du niveau d'expression n'a été détectée entre les différents groupes expérimentaux pour aucune des protéines étudiées.

ANNEXE B

MODULATION DE L'EXPRESSION DES PROTÉINES ÉTUDIÉES EN UTILISANT LES SOURIS ANOPHTALMES COMME CONTRÔLE

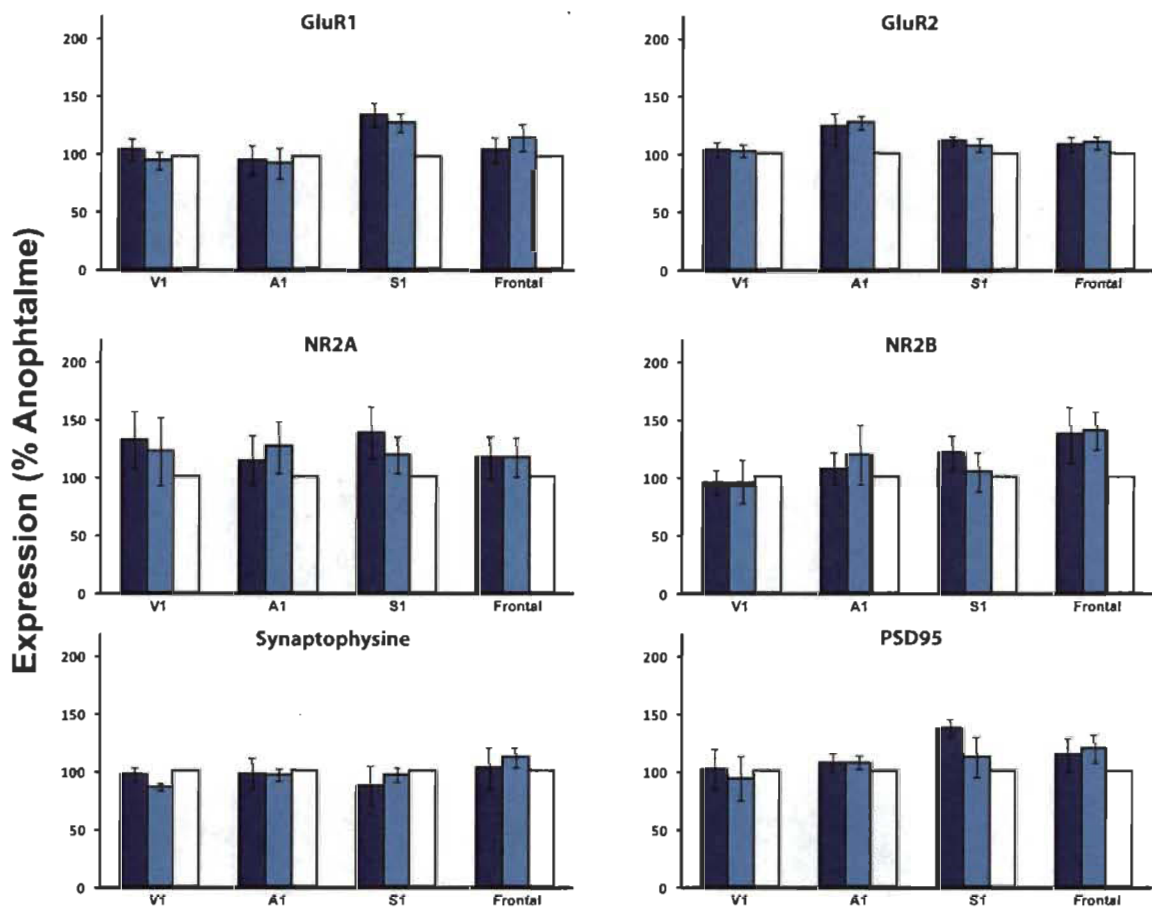


Figure B.1 Expression des protéines GluR1, GluR2, NR2A, NR2B, Synaptophysine et PSD95 chez les souris voyantes et énuclées par rapport aux souris anophtalmes

Les résultats obtenus lors de nos expériences ont été recalculés en utilisant les souris anophtalmes comme contrôle afin de s'assurer que la variabilité obtenue lors de nos expériences n'était pas attribuable à une modification de l'expression chez les souris voyantes selon le nombre d'heure d'exposition à la lumière. Aucune modulation significative du niveau d'expression n'a été détectée entre les différents groupes expérimentaux pour aucune des protéines étudiées.